

Aus der I. Medizinischen Klinik und Poliklinik der  
Johannes Gutenberg-Universität Mainz

---

EINFLUSS VERSCHIEDENER DESINFEKTIONSMITTEL  
AUF DEN RADIOIMMUNOASSAY FÜR  
AUSTRALIA-ANTIGEN

Inauguraldissertation  
zur Erlangung der Würde des Doktors der Medizin  
der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz

dem Medizinischen Fachbereich  
vorgelegt

von

ULRICH BERNHARD  
—  
aus Idar-Oberstein

Mainz  
—  
1979  
—

---

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg



Aus der I. Medizinischen Klinik und Poliklinik der  
Johannes Gutenberg-Universität Mainz

---

EINFLUSS VERSCHIEDENER DESINFEKTIONSMITTEL  
AUF DEN RADIOIMMUNOASSAY FÜR  
AUSTRALIA-ANTIGEN

Inauguraldissertation  
zur Erlangung der Würde des Doktors der Medizin  
der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz  
dem Medizinischen Fachbereich  
vorgelegt

von

ULRICH BERNHARD

aus Idar-Oberstein

Mainz  
1979



Dekan: Prof. Dr. H. Leithoff  
1.Gutachter: Prof. Dr. E.U. Baas  
2.Gutachter: Prof. Dr. K.H. Holtermüller

# I n h a l t s v e r z e i c h n i s

|                                                                                              | Seite |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| 1..... <u>Einleitung</u>                                                                     | 1     |
| 2..... <u>Material und Methode</u>                                                           | 4     |
| 2.1... Gewinnung der Seren, die bei den Untersuchungen verwendet werden                      | 4     |
| 2.1.1. Mit Ultraviolett- $\beta$ -Propiolakton vorbehandeltes Antigen-haltiges Serum         | 4     |
| 2.1.2. Antigen-haltige Seren von Hepatitis-B-Kranken                                         | 5     |
| 2.1.3. Serum eines adipösen Patienten ohne Antigenämie                                       | 5     |
| 2.2... Benutzte handelsübliche Desinfektionsmittel                                           | 6     |
| 2.3... Inkubationsversuche von Australia-Antigen-haltigen Seren mit den Desinfektionsmitteln | 9     |
| 2.3.1. Gepoolte mit Ultraviolett und $\beta$ -Propiolakton vorbehandelte Seren               | 9     |
| 2.3.2. Seren von Patienten mit Hepatitis B                                                   | 10    |
| 2.4... Vergleichende Untersuchung mit insulinhaltigem Serum                                  | 12    |
| 2.5... Radioimmunoassays für Australia-Antigen und Insulin                                   | 14    |
| 2.6... Elektronenmikroskopische Untersuchungen                                               | 16    |
| 3..... <u>Ergebnisse</u>                                                                     | 17    |
| 3.1... Inkubationsversuche von Australia-Antigen-haltigen Seren mit den Desinfektionsmitteln | 17    |
| 3.1.1. Gepoolte mit Ultraviolett und $\beta$ -Propiolakton vorbehandelte Seren               | 17    |
| 3.1.2. Seren von Patienten mit Hepatitis B                                                   | 18    |
| 3.2... Vergleichende Untersuchung mit insulinhaltigem Serum                                  | 21    |
| 3.3... Elektronenmikroskopische Untersuchungen                                               | 22    |
| 4..... <u>Diskussion</u>                                                                     | 23    |
| 5..... <u>Zusammenfassung</u>                                                                | 28    |
| 6..... <u>Tabellen und Abbildungen</u>                                                       | 30    |
| 7..... <u>Literaturverzeichnis</u>                                                           | 60    |
| <u>Lebenslauf</u>                                                                            | 67    |

Digitized by the Internet Archive  
in 2026

# 1..... Einleitung

Seit der Beschreibung von DANE, CAMERON und BRIGGS (8) gelten virusähnliche Partikel mit einem Durchmesser von 42 nm als Erreger der Hepatitis B (38). Im Elektronenmikroskop lassen sich eine äußere Kapsel von 7 nm, eine Schale von 2 nm Dicke und ein innerer Kern von 27 nm Durchmesser unterscheiden (37). Die Isolierung des Kernes erreicht man durch Detergentienbehandlung (2): er enthält das Hepatitis-B-core-Antigen. Die mit diesem Verfahren abgetrennte Hülle der Viren sowie sphärische und tubuläre Bestandteile eines Australia-Antigen-positiven Serums sind Träger der Hepatitis-B-surface-Antigenität. Das Antigen tritt erstmals 3-4 Wochen vor dem Ausbruch der klinischen Symptome auf und kann über Jahre persistieren (20).

Mit Hilfe von Immunelektrophorese und Radioimmunoassay ist das Australia-Antigen in den verschiedenen Körperflüssigkeiten nachgewiesen worden: zum Beispiel im Blut (22), im Speichel (10, 14, 36), in Stuhl und Urin (12, 34, 36), im Sperma (14) und im Gallensekret (3). Untersuchungen haben gezeigt, daß durch Injektion von verdünntem Antigen-haltigen Serum eine klinische Hepatitis B hervorgerufen werden kann: selbst durch eine subkutane Injektion von 0,5 ml einer Serumverdünnung von  $10^{-4}$  sind noch klinische Symptome der Erkrankung am Menschen auszulösen (5, 21).

Da derzeit keine generelle aktive Immunisierung gegen die Virus-Hepatitis möglich ist, kommen vor allem Des-

infektionsverfahren für die Unterbrechung der Infektionskette in Frage. Während fakultativ pathogene Keime sich weitgehend durch Desinfektionsmittel abtöten lassen (6,7, 19, 23, 29, 30, 33), bereitet die Inaktivierung der Viren der Hepatitis B Probleme.

Wie KRUGMAN et AL (21) bei Versuchen an Menschen zeigen konnte, gelingt die notwendige Virusaktivierung erfolgreich durch dreiminutige Hitzeeinwirkung bei 98°C. Allerdings kommen nicht nur thermische Desinfektionsverfahren für die Inaktivierung der Viren in Frage, da zahlreiche thermolabile Instrumente in der Medizin Verwendung finden (4, 24, 27).

Die Wirksamkeit chemischer Desinfektionsmittel auf das Hepatitis-B-Virus ist bisher kaum untersucht worden. Nach Angaben der Firma BIOTEST soll Ultraviolett- $\beta$ -Propiolakton vorbehandeltes Serum nicht mehr infektiös sein. Erste Berichte über eine elektronenmikroskopisch sichtbare Destruktion dieser Viren veröffentlichten ALMEIDA et AL.(2), die nach Behandlung mit Tween 80 eine Destruktion der Viren sehen konnten.

In der vorliegenden Arbeit wird der Versuch unternommen, die Wirksamkeit verschiedener Desinfektionsmittel auf das im Radioimmunoassay nachgewiesene Australia-Antigen zu untersuchen. Mit den verschiedenen Desinfektionsmitteln behandeltes Dane-Partikel enthaltendes Patientenserum wird zusätzlich elektronenmikroskopisch untersucht. Es soll dadurch geklärt werden, ob der Abfall der meßbaren Antigenität mikros-

kopisch sichtbaren Veränderungen am Antigen und am Dane-Partikel entspricht.

## 2..... Material und Methode

### 2.1... Gewinnung der Seren, die bei den Untersuchungen verwendet werden

#### 2.1.1. Mit Ultraviolett- $\beta$ -Propiolakton vorbehandeltes Antigen-haltiges Serum

Bei der Sterilisation von Serum erwies sich  $\beta$ -Propiolakton in einer Konzentration von 0,4% als gutes Mittel zur Inaktivierung von Coxsackie-, Influenza-, Polio- und Rabiesviren (13). Da diese Substanz kanzerogene Nebenwirkungen haben soll (28), reduzierte man ihre Konzentration und setzte das behandelte Serum zusätzlich einer Ultraviolett-Bestrahlung aus. Seit 1956 wird  $\beta$ -Propiolakton kombiniert mit Ultraviolett-Bestrahlung für die Sterilisation von Plasma und Serum verwendet: mehr als 4000 Einheiten Ultraviolett- $\beta$ -Propiolakton behandelten Plasmas und 300000 Einheiten behandelten Serums sind bisher transfundiert worden, ohne daß danach eine Hepatitis B gemeldet wurde (11). Die Firma BIOTEST stellt seit 1966 so behandeltes gepooltes Humanserum von gesunden Australia-Antigen-Trägern, 1000 Spender pro Pool, zu Forschungszwecken in Form von Diagnostiksets zur Verfügung. Dieses Serum, in dem trotz Vorbehandlung noch Australia-Antigen nachweisbar ist, soll nicht mehr infektiös sein (Firma BIOTEST). Die Diagnostiksets sind für die Titerbestimmung von Australia-Antigen im Radioimmunoassay hergestellt. Jeder Satz besteht aus einem Fläschchen mit dem vorbehandelten gepoolten Serum, das einen positiven Australia-Antigen-Titer hat, und je einem Fläsch-

chen mit Australia-Antigen-positivem und Australia-Antigen-negativem Kontrollserum. Mit diesen beiden Kontrollseren wird an Hand einer Formel ein Grenzwert für diesen Diagnostiksatze errechnet. Alle im Radioimmunoassay gemessenen Australia-Antigen-Titer, die über diesem Grenzwert liegen, bezeichnet man als positiv, alle, die darunter liegen, als negativ. Für die zahlreichen Messungen bei den durchgeführten Untersuchungen werden mehrere Diagnostiksätze benötigt. Daraus ergeben sich auch mehrere Grenzwerte.

#### 2.1.2. Antigen-haltige Seren von Hepatitis-B-Kranken

Um mit Sicherheit infektiöses Material zu untersuchen, wird Serum von sechs Patienten, die akut an Hepatitis B erkrankt waren, verwendet. Das Blut wird mit einer Einmalspritze in der Armbeuge abgenommen und bei 2500 Umdrehungen/Minute zentrifugiert. Das Serum des Zentrifugates wird sofort weiterverarbeitet.

#### 2.1.3. Serum eines adipösen Patienten ohne Antigenämie

Für vergleichende Untersuchungen steht eine Serumprobe eines Patienten ohne Hepatitis B zur Verfügung. Das Blut wird nüchtern eine Stunde nach oraler Gabe von 100 g Glukose in der Armbeuge abgenommen, zentrifugiert und das Serum sofort weiterverwendet. Um eine möglichst hohe Insulinausscheidung nach der Glukosebelastung zu gewährleisten, wurde ein adipöser Patient ausgewählt.

2.2... Benutze handelsübliche Desinfektionsmittel

Bei unseren Untersuchungen werden die folgenden handelsüblichen Substanzen eingesetzt, wobei die Charakterisierung entsprechend den Angaben in den wissenschaftlichen Mitteilungen der einzelnen Hersteller erfolgt:

- a.) Cidex (Alhydex) der Firma Johnson & Johnson (Präparat A)  
Cidex ist eine wäßrige 2%ige Glutardialdehydlösung, die ungepuffert unbegrenzt haltbar ist. Die Aktivierung erfolgt unmittelbar vor Gebrauch mit 0,3%igem Natriumbikarbonat. Die keimtötende Wirkung soll mindestens zwei Wochen voll erhalten bleiben (17).
- b.) Gigasept der Firma Schülke & Mayr (Präparat B)  
Gigasept ist wie Cidex ein Mittel auf Aldehydbasis und setzt sich aus Bernsteinsäuredialdehyd und 2,5 Dimethoxytetrahydrofuran zusammen. Es wird als Konzentrat geliefert und kann mit Aqua dest. zu jeder gewünschten Konzentration verdünnt werden. Zusätze wie Aktivatoren sind nicht notwendig. Die Lösung soll 14 Tage haltbar sein (32).
- c.) Mucocit der Firma Merz & Co (Präparat C)  
Mucocit besteht aus anorganischen Polyphosphaten in Verbindung mit anionenaktiven und nicht ionogenen Emulgatoren sowie halogenierten Alkyl- und Arylphenolen. Die Wirkstoffe liegen in gelöster Form vor und brauchen nur mit Aqua dest. verdünnt werden (26).
- d.)  $\beta$ -Propiolakton (Präparat D)  
Beim  $\beta$ -Propiolakton handelt es sich um ein Lakton, den

Ester der  $\beta$ -Oxypropionsäure. In wäßriger Lösung unterliegt es einer schnellen hydrolytischen Spaltung, und es entstehen Polymere. In diesem Zustand verliert die Substanz ihre keimtötende Wirksamkeit (23).

e.) Sekusept der Firma Henkel & Co (Präparat E)

Sekusept wirkt keimtötend durch aktivierten Sauerstoff. Es enthält außerdem reinigende Tenside und Komplexphosphate. In Aqua dest. angesetzt ist es einen Tag voll wirksam gegen Bakterien, Tuberkelbazillen und Pilze (14).

Die genannten Substanzen sind, außer  $\beta$ -Propiolakton, nach Angaben der Hersteller gut hautverträglich und materialschonend und haben eine gute Reinigungswirkung.

Nach den Angaben der Hersteller haben die genannten Substanzen die in der folgenden Tabelle genannten germiziden Eigenschaften:

Germizide Eigenschaften der genannten Desinfektionsmittel ( 6, 7, 11, 13, 16, 17, 19, 23, 26, 29, 30, 32, 33)

| Eigenschaften | Alhydrex          | Gigasept<br>(3%ig) | Mucocit<br>(1,5%ig) | $\beta$ -Propiolakton<br>(0,4%ig) | Sekusept<br>(2%ig) |
|---------------|-------------------|--------------------|---------------------|-----------------------------------|--------------------|
| viruzid       | 10 Min. ( $x_1$ ) | 1 Std.             | 5-20 Min.           | 1 Std. ( $x_2$ )                  | -----              |
| bakterizid    | 1-5 Min.          | 1 Std.             | 5-15 Min.           | 1 Std.                            | 30 Min.            |
| tuberkulozid  | 15 Min.           | 1 Std.             | 20-30 Min.          | -----                             | 1 Std. (10%ig)     |
| sporo-<br>zid | 3-16 Std.         | 3 Std. (10%ig)     | -----               | 30 Min. (1,5%ig)                  | -----              |
| fungizid      | 10 Min.           | 1 Std.             | 5-15 Min.           | -----                             | 1 Std.             |

$x_1$  = Polio-, Coxsackie-, Echo-, Adeno-, Herpes-, Vaccinia-, Influenza-Viren  
 $x_2$  = Polio-, Coxsackie-, Influenza-, Rabies-Viren

2.3... Inkubationsversuche von Australia-Antigen-haltigen Seren mit den Desinfektionsmitteln

2.3.1. Gepoolte, mit Ultraviolett und  $\beta$ -Propiolakton vorbehandelte Seren

Untersucht wird der Einfluß von

Präparat A (2%ig),

Präparat C (1,5%ig) sowie

Präparat E (1, 2 und 10%ig)

auf die Australia-Antigenität in den gepoolten vorbehandelten Seren der Firma BIOTEST. Die Inkubationsversuche werden wie folgt durchgeführt: Zum Ansatz kommen in das 1. Reagenzröhrchen 1/2 ml gepooltes Serum mit 1/2 ml Desinfektionsmittel. Weitere Verdünnungsstufen (1:3, 1:7 und 1:15) werden hergestellt.

Das Gemisch aus gepooltem Serum und Desinfektionsmittel wird bei Raumtemperatur inkubiert. Nach einer Einwirkungszeit von 15, 30, 50, 70, 120 und 240 Min. werden mit Antikörper gegen Australia-Antigen beschichtete Kügelchen hinzugegeben und bei einer Temperatur von 37°C im Wasserbad weitere 60 Min inkubiert. Mit Hilfe von Antiserum gegen die Antikörper auf den Kügelchen wird daraufhin der Australia-Antigen-Titer mit dem Radioimmunoassay der Firma ABPOIT bestimmt. Da der Versuchsablauf, der in 2.5. genauer beschrieben ist, für eine Inkubationszeit über 5 Stunden beansprucht, können nicht alle Messungen an einem Tag durchgeführt werden. Für jede Messung ist ein Diagnostiksatze erforderlich, aus dem mit dem Radioimmunoassay je ein Grenzwert errechnet wird. Während des Versuchsablaufes ist es nicht

zu vermeiden, daß die Desinfektionsmittel noch während der 60-minutigen Inkubation im Wasserbad auf die mit Antikörper beschichtete Kügelchen und damit auch auf das Australia-Antigen einwirken. Dadurch erhöhen sich die jeweiligen Inkubationszeiten um 60 Min.. Die tatsächlichen Einwirkungszeiten der Desinfektionsmittel auf das antigenhaltige Serum betragen deshalb 75, 90, 110, 130, 180 und 300 Min.. Jede einzelne Messung wird dreimal durchgeführt und aus den Ergebnissen der Mittelwert errechnet.

Als Ausgangstiter werden die Counts/Min. des nicht mit Desinfektionsmittel behandelten gepoolten Serums genommen. Dieser Titer setzt einen Bezugspunkt für die Beurteilung der durch Desinfektionsmittel hervorgerufenen Veränderungen.

Als Leerwert wird Aqua dest. an Stelle der Desinfektionsmittel mit dem gepoolten Serum inkubiert.

### 2.3.2. Seren von Patienten mit Hepatitis B

Nach den Untersuchungen an vorbehandeltem, nicht mehr infektiösem Serum der Firma BIOTEST werden Verdünnungsreihen (1:1, 1:3, 1:7 und 1:15) aus sechs Seren von Patienten mit Hepatitis B mit den folgenden Desinfektionsmitteln durchgeführt:

Präparat A (2%ig),

Präparat C (1,5%ig) sowie

Präparat E (2%ig).

Zusätzlich wird noch 0,4%iges  $\beta$ -Propiolakton als chemische Substanz eingesetzt, da diese Substanz nach

LoGrippe (13) in Verbindung mit Ultraviolett- Bestrahlung die Infektiosität von Australia-Antigen-haltigem Serum bei erhaltener Antigenität zerstören soll.

Das Gemisch aus dem Serum eines Patienten mit Hepatitis B und dem Desinfektionsmittel wird bei Raumtemperatur inkubiert. Zur Schaffung von gleichen Versuchsbedingungen werden die Messungen im Gegensatz zu den Versuchen mit den gepoolten Seren an einem Tag durchgeführt. Nach 30, 60 und 90 Min. dauernder Inkubation wird der Australia-Antigen-Titer mit dem Radioimmunoassay der Firma Abbott bestimmt. Für diese Inkubation benötigt man einen Diagnostiksatzt und erhält somit nur einen Grenzwert. Wegen der methodisch bedingten Nachinkubationszeit von 60 Min. erhöhen sich auch hier die Inkubationszeiten auf 90, 120 und 150 Min.. Jeder einzelne Versuch wird dreimal durchgeführt und aus den Ergebnissen der Mittelwert errechnet.

Die Seren der fünf anderen Patienten mit Hepatitis B werden nur noch in zwei Verdünnungsstufen, nämlich 1:3 und 1:15 untersucht. Es wird nur 120 Min. inkubiert. Wegen widersprüchlicher Ergebnisse wurde  $\beta$ -Propiolakton durch Präparat B (3%ig) ersetzt. Dieses Desinfektionsmittel beruht wie Glutardialdehyd (Präparat A) auf Aldehydbasis.

Ausgangstiter und Leerwert werden wie oben beschrieben bestimmt.

2.4... Vergleichende Untersuchung mit insulinhaltigem Serum

Es ist bisher unbekannt, ob die Ergebnisse, die bei Einwirkung der Desinfektionsmittel auf Australia-Antigen-haltige Seren erhalten wurden, eine Veränderung des Proteins "Australia-Antigen" anzeigen oder durch Beeinflussung der Meßmethode bedingt sind. Eine Destruktion von Proteinen ist denkbar. Aus diesem Grund erfolgten Messungen mit einem Radioimmunoassay für Insulin. Sollten die Desinfektionsmittel Eiweiß alterieren, müßte auch dieser Radioimmunoassay verändert werden. Da Glutardialdehyd (Präparat A) bei Einwirkung auf die Australia-Antigen-haltigen Seren die niedrigsten Meßergebnisse mit dem Radioimmunoassay für Australia-Antigen ergab, wird diese Substanz mit insulinhaltigem Serum einer adipösen Patienten, nach oraler Glukosebelastung, inkubiert.

Bei den Ansätzen wird die Menge des Patientenserums im Verhältnis 1:1 und 1:3 mit dem Präparat A verdünnt.

Das Gemisch aus Patientenserum und Glutardialdehyd wird bei Raumtemperatur inkubiert. Nach 60 Min. erfolgt die Messung der Radioaktivität mit Hilfe des Radioimmunoassays für Insulin. Um aus den gemessenen Counts/Min. den Insulintiter zu berechnen, wird mit vier bekannten Insulinstandards (50, 100, 180 und 250  $\mu$ E) eine Eichkurve aufgestellt (siehe 2.5.). Jeder einzelne Versuch wird zweimal wiederholt und aus den Ergebnissen der Mittelwert gebildet.

Als Ausgangstiter werden die Counts/Min. des nicht mit

Glutardialdehyd (Präparat A) behandelten Serums gemessen.  
Als Leerwert wird Aqua dest. an Stelle von Glutardialdehyd  
mit dem Serum inkubiert.

2.5... Radioimmunoassay für Australia-Antigen und Insulin (1, 10, 15)

Bei dem Radioimmunoassay für Australia-Antigen handelt es sich um den AU(SH)Radioimmunoassay mit dem Ausria II-125 Diagnostiksatzz der Firma ABBOTT. Dieser Diagnostiksatzz enthält Kügelchen, die mit Antikörper gegen Australia-Antigen beschichtet sind und  $J^{125}$ markiertes Antiserum speziell gegen diese Antikörper.

Zu den Kügelchen gibt man  $1/2$  ml Serum mit unbekanntem Australia-Antigen-Titer. Nach einer Inkubationszeit von 60 Min. im Wärmebad bei  $37^{\circ}\text{C}$  haben sich Antigen-Antikörper-Komplexe an der Oberfläche gebildet. Nach Waschen der Kügelchen mit Aqua dest. und Zugabe von  $J^{125}$ markiertem Antiserum wird weitere 120 Min. bei  $37^{\circ}\text{C}$  inkubiert. Aus dem AgAk-Komplex entsteht ein AkAgAk-Komplex. Dessen Radioaktivität wird nach erneutem Waschen der Kügelchen im Radioimmunoassay bestimmt. Gemessen wird in Counts/Min.. Je weniger Australia-Antigen im Serum vorhanden ist, um so niedriger sind die im Radioimmunoassay gemessenen Counts.

Anders ist der Ablauf der Reaktionen im Radioimmunoassay für Insulin:

Zum Patientenserum, welches Insulin in unbekannter Menge enthält, wird aus dem Diagnostiksatzz eine definierte Menge  $J^{125}$ markiertes Insulins und eine definierte Menge spezifischen Antiserums gegen Insulin gegeben. Nach einer Inkubationszeit von 60 Min. bei einer Temperatur von  $37^{\circ}\text{C}$  bilden sich Antigen-Antikörper-Komplexe. Dabei konkurrieren das markierte und das unmarkierte Insulin um die Bindungsstellen des Antiserums, bis sich nach dem Prinzip der kompetitiven Hemmung ein Gleichgewichts-

zustand eingestellt hat. Je weniger Insulin im Patientenserum enthalten ist, desto mehr markiertes Insulin wird vom Antiserum gebunden. Nach Erreichen des Gleichgewichtszustandes trennt nach das am Antiserum gebundene Insulin von dem freien, nicht an Antiserum Gebundenem durch Zugabe von Dextran und anschließendem Zentrifugieren ab. Der Radioimmunoassay ermittelt anschließend in getrennten Messungen die Radioaktivität des gebundenen und des freien Insulins. Die Menge des zu bestimmenden Insulins im Patientenserum ist dann aus einer Eichkurve abzulesen. Diese erhält man, indem man die Konzentrationen von vier bekannten Insulinstandards graphisch gegen die im Radioimmunoassay hierbei gemessene gebundene (B) zu freie (F) Radioaktivität =  $B/F$ -Wert aufträgt. Je weniger Insulin im Patientenserum enthalten ist, um so größer wird der  $B/F$ -Wert und um so kleiner wird die Insulinkonzentration aus der Eichkurve.

## 2.6... Elektronenmikroskopische Untersuchungen

Um festzustellen, ob die Desinfektionsmittel sichtbare morphologische Veränderungen an Australia-Antigen- und Dane-Partikeln hervorrufen, erfolgen elektronenmikroskopische Untersuchungen an einem Elmiskop 101 (Spannung 80 kV, primäre Vergrößerung 60000, Nachvergrößerung 125000) am Virologischen Landesuntersuchungsamt in Münster/Westfalen (Direktor Prof. Dr. Maas).

Untersucht wurde der Einfluß von

Präparat A (2%ig),

Präparat B (3%ig),

Präparat C (1,5%ig),

Präparat D (0,4%ig) sowie

Präparat E (2%ig)

auf die Australia-Antigenität im Serum eines Patienten mit Hepatitis B.

Das Gemisch aus 1/2 ml Patientenserum und 1/2 ml Desinfektionsmittel wird nach Zugabe von Antiserum gegen Australia-Antigen bei einer Temperatur von 37°C im Brutschrank inkubiert. Nach 60 Min. geben wir eine Tropfen des Versuchsansatzes auf eine Agarplatte (0,8%iger Ionagar in Veronal-Puffer mit pH 8,1) und legen ein mit einer Formavar-Folie (3,5%iger Formavar in Chloroform) bespanntes Kupfernetz auf. Nach etwa 20 Min. ist der Flüssigkeitstropfen in den Agar eingedrungen. Das Netz wird abgehoben und für 30 Sekunden auf eine Tropfen Phosphorwolframsäure (2%ig in Aqua dest.) zur negativen Kontrastierung gelegt (18). Nach dem Trocknen auf Filterpapier wird das Netz im Elektronenmikroskop ausgewertet. Dasselbe Serum wird zum Vergleich ohne Desinfektionsmittel präpariert.

### 3..... Ergebnisse

#### 3.1... Inkubationsversuche von Australia-Antigen-haltigen Seren mit den Desinfektionsmitteln

##### 3.1.1. Gepoolte mit Ultraviolett und $\beta$ -Propiolakton vorbehandelte Seren

Nach Behandlung der gepoolten Seren mit Glutardialdehyd (Präparat A) werden die niedrigsten Counts/Min. von allen geprüften Substanzen bei allen Inkubationszeiten und Verdünnungen gemessen (Tabellen I a-d). Ausgehend von drei verschiedenen Australia-Antigen-Titern der gepoolten Seren ohne Desinfektionsmittelzusatz (3819, 6680 und 11298 Counts/min.) werden nach der Behandlung Counts bis in die Nähe der Grenzwerte, teilweise sogar darunter, erreicht (Abbildungen I a-d). Bei der hohen Verdünnung 1:15 zum Beispiel bedeutet das ein Abfall der Counts von 3819 (bzw. 6680 oder 11298) auf 639 (bzw. 238 oder 665) bei einem Grenzwert von 716 (bzw. 261 oder 698) Counts/Min. und einer Inkubationszeit von 90 (bzw. 130 oder 300) Min.. In Prozenten ausgedrückt entspricht das einem Abfall der Counts von 83 (bzw. 96 oder 96) %. Im Vergleich dazu mißt man für den Leerwert 8168 (bzw. 6055 oder 11722) Counts/Min.

Nach Behandlung der gepoolten Seren mit den Präparaten E und C werden höhere Australia-Antigen-Titer gemessen (Tabellen I a-d). Trotz der hohen Verdünnung von 1:15 und 300 Min. Inkubation erreicht nur das Präparat E (10%ig) den Grenzbereich (Abbildung I d): das bedeutet

ein Abfall der Counts von 11298 auf 740 bei einem Grenzwert von 698 Counts/Min., was, in Prozenten ausgedrückt, einem Abfall von 93 % entspricht. Für das Präparat C mißt man unter den gleichen Versuchsbedingungen nur 5630 Counts/Min. bei einem Leerwert von 11722. Damit reduziert diese Substanz bei den gepoolten Seren den Ausgangstiter nur um 50 % und somit am wenigsten, während das Präparat C zwischen den Präparaten A und E einzuordnen ist.

Auffällig ist die Beobachtung, daß in den ersten Verdünnungsstufen die Leerwerte teilweise einen stärkeren Abfall der Counts erzeugen als die Präparate E und C (Abbildungen I a-c). Es ist daher keine Aussage möglich, ob in diesem Bereich ein Einfluß der Desinfektionsmittel auf das Antigen vorliegt, oder ob durch die Verdünnungen derartige Veränderungen hervorgerufen werden.

Der Anstieg der Counts in den ersten Verdünnungsstufen über den Ausgangstiter (Abbildungen I a-d) beruht möglicherweise auf den sogenannten Prozone-Phänomen (31).

### 3.1.2. Seren von Patienten mit Hepatitis B

Nach Behandlung des Serums eines Patienten mit Hepatitis B mit Glutardialdehyd (Präparat A) finden sich auch hier von allen geprüften Substanzen die niedrigsten Counts/Min. bei allen Inkubationszeiten und Verdünnungen (Tabellen III a-d). Ausgehend von einem Australia-Antigen-Titer im Patientenserum ohne Desinfektionsmittelzusatz von 5507 Counts/Min. werden nach der Behandlung Counts bis in die Nähe des Grenzwertes erreicht (Abbildungen

II a-d, IV). Bei einer Verdünnung von 1:7 zum Beispiel bedeutet das ein Abfall der Counts von 5507 auf 258 bei einem Grenzwert von 195 Counts/Min. und einer Inkubationszeit von 120 Min. Dies entspricht einem Rückgang des Ausgangstiter von 95 %. Im Vergleich dazu mißt man für den Leerwert 1473 Counts/Min..

Nach Behandlung des Serums mit den Präparaten E und C werden höhere Australia-Antigen-Titer gemessen (Tabellen III a-d). Im Vergleich zu dem Desinfektionsmittel auf Aldehydbasis erreicht das Präparat E bei 1:7 Verdünnung und 120 Min. Inkubation nur 590, das Präparat C 684 Counts/Min., bei einem Leerwert von 1473 (Abbildung II c). Dies entspricht einem Abfall von 89 (Präparat E) bzw. 88 %. Damit reduziert letztgenannte Substanz den Ausgangstiter des Patientenserums am wenigsten, während das Präparat C zwischen den Präparaten A und E einzuordnen ist (Abbildung IV).

Wie bei den gepoolten vorbehandelten Seren erzeugen auch hier die Leerwerte in den ersten Verdünnungsstufen teilweise einen stärkeren Abfall der Counts als die Präparate E und C (Abbildung II a-c). Auch bei diesen Versuchen ist nicht festzustellen, ob in diesem Bereich eine Wirksamkeit der genannten Desinfektionsmittel vorliegt, oder ob durch die Verdünnungen diese Veränderungen hervorgerufen werden.

Die Substanz  $\beta$ -Propiolakton zeigt bei den Messungen kein eindeutiges Verhalten (Abbildungen II a-d, IV). Trotz weiterer Verdünnung nehmen die gemessenen

Counts/Min. weiter zu: das bedeutet ein Anstieg von 693 Counts bei 1:1 Verdünnung auf 1180 bei 1:3 und 1543 bei 1:7 Verdünnung bei 120 Min. Inkubation (Abbildung IV).

Im Vergleich zu dem ersten Patientenserum zeigen die Ergebnisse der Untersuchungen an den anderen fünf Seren keine wesentlichen Veränderungen (Tabellen IV a+b). Bei den hier benutzten Australia-Antigen-Titern in den Ausgangsseren werden nach Behandlung mit Glutardialdehyd (Präparat A) Counts bis in den Grenzbereich gemessen: das bedeutet ein Abfall der Counts, zum Beispiel beim 2. Patienten bei 1:15 Verdünnung, von 12866 auf 356 bei einem Grenzwert von 330 Counts/Min.. Dies entspricht einem Rückgang des Ausgangstiters von 97 %.

Das Präparat E erreicht unter den gleichen Versuchsbedingungen nur 808, das Präparat C 950 Counts/Min.. Dies bedeutet ein Abfall von 94 bzw. 93 %.

Lediglich das Aldehydpräparat Bersteinsäuredialdehyd (Präparat B) verhält sich ähnlich wie Glutardialdehyd (Präparat A) und erreicht mit 436 Counts/Min. ebenfalls den Grenzwert, entsprechend einem Abfall von 97 %.

.2... Vergleichende Untersuchung mit insulinhaltigem Serum

Nach Aufstellen der Eichkurve mit Hilfe der Insulinstandards wird die Insulinkonzentration unseres Patientenserums, nach Bestimmung des B/F-Wertes im Radioimmunoassay für Insulin, darin abgelesen: sie beträgt 120  $\mu\text{E}$ . Der Nüchternwert eines normal konstituierten Menschen liegt zwischen 15 und 20  $\mu\text{E}$ .

Die nach einer Inkubationszeit von 60 Min., bei Einwirkung von Glutardialdehyd (Präparat A) auf das insulinhaltige Serum, im Radioimmunoassay für Insulin gemessenen  $\mu\text{E}$  liegen um das 5-6fache höher als die Insulinkonzentration im Ausgangsserum (Tabelle V). Es werden Insulinwerte von über 600  $\mu\text{E}$  erreicht, die Vergleichs-Leerwerte liegen mit Werten unter 80  $\mu\text{E}$  weit darunter.

### 3.3... Elektronenmikroskopische Untersuchungen

Parallel zu den Ergebnissen im Radioimmunoassay konnten mit den elektronenmikroskopischen Bildern keine wesentlichen morphologischen Veränderungen durch die Einwirkung der Präparate C,D und E festgestellt werden. Die in allen an angesetzten Präparaten nachgewiesenen Australia-Antigen- und Dane-Partikel bleiben in einem Beobachtungszeitraum von einer Stunde fast unverändert erkennbar.

Nach Einwirkung von Glutardialdehyd (Präparat A) und Bersteinsäuredialdehyd (Präparat B) erkennt nach zahlreiche sphärische Partikel, während typische Dane-Partikel der entsprechenden Größe und Morphologie nicht mehr gefunden werden. Die Dane-Partikel scheinen gequollen zu sein und bilden homogen-elektronendichte runde oder polygonale Gebilde. Die Kapsel ist stellenweise aufgerissen. Auch die Zahl der Dane-Partikel lag unter derjenigen des Ausgangspräparates.

Bei der Durchmusterung der Präparate fällt auf, daß eine erhebliche Verunreinigung vorliegt. Als Ursache ist wahrscheinlich die fehlende Anreicherung und Isolierung der Dane-Partikel durch Ultrazentrifugation anzusehen.

#### 4..... Diskussion

Das von DANE, CAMERON und BRIGGS (8) aus dem Serum von Hepatitis-B-Kranken isolierte Partikel ist nach heutigem Wissensstand das vollständige Virus der Hepatitis B. Durch Untersuchungen von KRUGMAN et Al. (21) ist bekannt, daß ein Serum trotz positivem Antigennachweis nicht mehr infektiös sein muß (21, 25). Trotz weiterentwickelter Differenzierungsmethoden für Australia-Antigen und -Antikörper ist bis heute eine sichere Unterscheidung zwischen Antigenität und Infektiosität nicht gelungen. Lediglich durch aufwendige Tierversuche gelingt es, die Infektiosität eines Serums nachzuweisen.

Da Australia-Antigen als Hüllsubstanz des Hepatitis-B-Virus ein radioimmunologisch relativ einfach bestimmbarer Parameter ist, lag es nahe, den Einfluß von Desinfektionsmitteln auf dieses Lipoprotein zu untersuchen.

Deshalb wurde Antigen-haltiges Serum mit verschiedenen Desinfektionsmitteln inkubiert. Nach den Präparaten C, D und E wurde trotz langer Inkubationszeiten kein Abfall der Antigenität im Radioimmunoassay meßbar. Im Gegensatz dazu fielen die meßbaren Counts im Radioimmunoassay sowohl nach Glutardialdehyd (Präparat A) als auch Bernsteinsäuredialdehyd (Präparat B) deutlich ab. Da bekannt ist, daß Aldehyde mit Proteinen eine Verbindung eingehen können (33), könnte der Abfall der meßbaren Antigenität dadurch bedingt sein, daß das

Australia-Antigen als Lipoprotein mit diesen Substanzen reagiert und verändert wird.

Im Radioimmunoassay für Australia-Antigen der Firma ABBOTT (Ausria 125) werden mit Antikörper gegen Australia-Antigen beschichtete Plastikkügelchen eingesetzt (1). Nach Inkubation des Antigen-haltigen Serums mit dem Desinfektionsmittel konnte dieses nicht mehr aus dem Ansatz entfernt werden. Somit kommt auch der Antikörper, ebenfalls ein Protein, mit dem Desinfektionsmittel in Berührung und wird wahrscheinlich verändert. Der Abfall der meßbaren Antigenität kann also zwei Ursachen haben, einmal die Alteration des Antigens, zum anderen die des Antikörpers.

Um zu prüfen, ob dieser Abfall der Antigenität mit einer Eiweißdestruktion gleichzusetzen ist, werden vergleichende Untersuchungen mit einem Radioimmunoassay für Insulin durchgeführt. Insulinhaltiges Serum wird nach Einwirkung von Glutardialdehyd (Präparat A) untersucht. Im Gegensatz zu den niedrigen Counts bei den Australia-Antigen-Messungen nahm die gemessene Insulinmenge im Vergleich zum Kontrollansatz deutlich zu. Hier besteht einmal die Möglichkeit, daß das Aldehyd sich mit dem Insulin, zum anderen, daß es sich mit dem Antiserum gegen Insulin verbindet. Im ersten Fall wird dann das Insulin so verändert, daß es nicht mehr mit dem Antiserum reagieren kann. Eine erhöhte Insulinmenge wird im Radioimmunoassay angezeigt.

Im zweiten Fall zerstört das Aldehyd die Bindungs-

stellen des Antiserums gegen Insulin, sodaß nach Zugabe von markiertem und unmarkiertem Insulin dieses sich nicht mehr mit dem Antiserum verbinden kann. Das an das Antiserum gebundene Insulin nimmt ab, während das freie Insulin zunimmt. Der B/F-Wert wird kleiner, wodurch ein erhöhter Insulintiter angezeigt wird.

Diese Untersuchungen zeigen, daß Dialdehyde Proteine so denaturieren, daß im Radioimmunoassay deutlich meßbare Veränderungen gegenüber Vergleichsansätzen auftreten. Für die Hepatitis-B-Viren könnte dieser Befund darauf hinweisen, daß die umgebenden Hüllen der Dane-Partikel von bestimmten Desinfektionsmitteln angegriffen werden. Es ist jedoch nicht möglich, aus diesem Abfall der Antigenität auf eine reduzierte Infektiosität zu schließen. Dafür wären Tierversuche erforderlich, die aus Kostengründen nicht durchführbar waren.

Sollten die Veränderungen in der meßbaren Antigenmenge jedoch mit einer Destruktion der aus Proteinen bestehenden Hüllen der Viren einhergehen, müßten diese sichtbar sein. Die elektronenmikroskopischen Befunde bestätigten die Vermutung. Obgleich die Untersuchungen dadurch erschwert wurden, daß Seren benutzt wurden, in denen die Dane-Partikel weder angereichert noch mit Pufferlösung isoliert worden waren, konnten Veränderungen in der Struktur der Viren gesehen werden. Gleichzeitig fiel die Antigenität deutlich ab. Sowohl nach Glutar-dialdehyd (Präparat A) als nach Bernsteinsäuredialdehyd (Präparat B) sahen die Partikel geschwollen und unregel-

mäßig konturiert aus. Nach einer Inkubationszeit von 60 Min. waren nur noch desintegrierte Dane-Partikel erkennbar.

Über gleiche Ergebnisse berichten THRAENHARD et Al (34) für Bernsteinsäuredialdehyd. Bereits nach 2 Min. Inkubation beobachteten sie morphologische Veränderungen der Dane-Partikel: die Partikel verloren ihre runde Form, die äußere Membran brach auf und rollte sich spiralförmig ab, und der Zwischenraum zwischen äußerer Membran und Kern vergrößerte sich. Nach 15 Min. Einwirkung verloren die Partikel sogar ihre charakteristische Substrukturierung.

Ob sichtbare Alteration der Dane-Partikel, die mit einem Abfall der Antigenität einhergeht, mit einer Inaktivierung der Hepatitis-B-Viren gleichgesetzt werden kann, bleibt ungeklärt. Die Veränderung der Partikel nach aldehydhaltigen Substanzen könnte auch ein Fixationseffekt sein, da Aldehyde in der Elektronenmikroskopie für diesen Zweck benutzt werden.

Andererseits beobachteten THRAENHARD et Al (34), daß hitzebehandelte Dane-Partikel ein ähnliches Aussehen haben wie solche, die mit Desinfektionsmitteln Kontakt hatten. Daß so behandeltes Serum keine Hepatitis B mehr hervorrufen kann, bewiesen KRUGMANN et Al (21) mit Versuchen am Menschen.

Für weitere Untersuchungen von Desinfektionsmitteln sollten angereicherte und gereinigte Dane-Partikel-

enthaltende Seren benutzt werden, um die strukturellen Veränderungen der Viren besser erkennen zu können. Solange kein in-vivo-Modell zur Züchtung von Hepatitis-Viren existiert, erscheint die elektronenmikroskopisch erkennbare Destruktion infektiöser Partikel die beste Aussagekraft zu haben. Messungen des Australia-Antigens nach Behandlung mit Desinfektionsmitteln sind dagegen als alleinige Methode zur Untersuchung von Veränderungen an Dane-Partikeln nicht geeignet. Die Änderungen der Antigenität eines Serums nach Desinfektionsmittel-Behandlung kann jedoch als Hinweis auf möglicherweise eingetretene strukturelle Veränderungen am Hepatitis-Virus selbst angesehen werden.

## 5..... Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit werden die Desinfektionsmittel A, B, C, D und E auf ihre Wirksamkeit gegenüber Australia-Antigen und Dane-Partikel untersucht.

Bei Raumtemperatur wurden Verdünnungsreihen aus gepooltem, mit Ultraviolett-Bestrahlung und  $\beta$ -Propiolakton vorbehandeltem, Serum bzw. aus Serum von Patienten mit Hepatitis B und verschiedenen Desinfektionsmitteln hergestellt. Nach unterschiedlichen Inkubationszeiten erfolgte die Messung des Australia-Antigen-Titers im Radioimmunoassay.

Elektronenmikroskopische Untersuchungen von Hepatitis-Seren nach Inkubation mit den verschiedenen Desinfektionsmitteln sollten mögliche morphologische Veränderungen der Dane-Partikel aufzeigen.

Die im Radioimmunoassay gemessenen Counts/Min. für Australia-Antigen nach Inkubation mit aldehydhaltigen Präparaten liegen bei mit Ultraviolett und  $\beta$ -Propiolakton vorbehandeltem Serum unter dem Grenzwert, bei nativem Australia-Antigen-positivem Serum in der Nähe des Grenzwertes. Die Antigenität fällt eindeutig ab. Der Vergleich mit einem insulinhaltigen Serum zeigte, daß auch der Radioimmunoassay für Insulin durch das Aldehyd beeinflusst wurde. Es scheint ein direkter Einfluß der Aldehyde auf das Protein denkbar. Damit kann der Radioimmunoassay für Australia-Antigen nicht als alleinige Methode zur Messung der Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln gegenüber Dane-Partikeln eingesetzt

werden. Die beobachteten morphologischen Veränderungen der Dane-Partikel im Elektronenmikroskop sprechen für eine Beeinflussung der Hepatitis-Viren durch die Desinfektionsmittel. Tierversuche zum Beweis einer eventuellen Inaktivierung sind erforderlich.

6..... Tabellen und Abbildungen

Tabellen I\_a-d

Einwirkung verschiedener Desinfektionsmittel auf Verdünnungsreihen gepoolter Australia-Antigen-haltiger Seren der Firma Biotest (UV-Betapron vorbehandelt).

Die drei unterschiedlichen Ausgangstitern und Grenzwerte ergeben sich aus der Benutzung von drei an verschiedenen Tagen eingesetzten Diagnostiksets der Firma Abbott. Nach der Inkubation mit den verschiedenen Desinfektionsmitteln werden die in Counts/Min. gemessenen Ergebnisse aus je drei Messungen mit den gleichen Versuchsbedingungen gemittelt.

**Tabelle Ia**  
Gepoolte Seren der Firma Biotest und Desinfektionsmittel

Verdünnung 1:1

| Einwirkungszeit | Ausgangstitel | Grenzwert | Leerwert                | Präparat<br>A (2%ig) | Präparat<br>C (1,5%ig)  | Präparat<br>E (1%ig) | Präparat<br>E (2%ig)    | Präparat<br>E (10%ig)        |
|-----------------|---------------|-----------|-------------------------|----------------------|-------------------------|----------------------|-------------------------|------------------------------|
| 75 Min.         | 3819          | 716       | 9073<br>9900<br>10720   | 992<br>1281<br>876   | 9330<br>8796<br>7120    | 8415                 | ---                     | 7041<br>6011<br>6934<br>7749 |
| 90 Min.         | 3819          | 716       | 11410<br>10703<br>9171  | 1111<br>936<br>877   | 8363<br>8824<br>9331    | 8839                 | ---                     | 3580<br>3772<br>2208         |
| 110 Min.        | 6680          | 261       | 6755<br>6619<br>6399    | 1745<br>1662<br>1258 | 8465<br>8568<br>9749    | 8927                 | 7399<br>7307<br>6951    | 6287<br>6244<br>5853         |
| 130 Min.        | 6680          | 261       | 6502<br>6739<br>6313    | 1455<br>1113<br>1047 | 7765<br>8506<br>7147    | 7606                 | 6500<br>6376<br>6012    | 3856<br>3791<br>3630         |
| 180 Min.        | 11298         | 698       | 13613<br>11240<br>13541 | 3862<br>3705<br>3715 | 15303<br>13272<br>13476 | 14017                | 15332<br>13256<br>14282 | 13704<br>12353<br>12664      |
| 300 Min.        | 11298         | 698       | 13786<br>11463<br>13706 | 1131<br>868<br>989   | 12489<br>11330<br>11020 | 11613                | 13572<br>12179<br>12301 | 13540<br>11385<br>12551      |

Tabelle Ib

Gepoolte Seren der Firma Biotest und Desinfektionsmittel

Verdünnung 1:3

| Einwirkungszeit | Ausgangstitler | Grenzwert | Leerwert                | Präparat<br>A(2%ig) | Präparat<br>C(1,5%ig)   | Präparat<br>E(1%ig) | Präparat<br>E(2%ig)     | Präparat<br>E(10%ig)            |
|-----------------|----------------|-----------|-------------------------|---------------------|-------------------------|---------------------|-------------------------|---------------------------------|
| 75 Min.         | 3819           | 716       | 9755<br>7751<br>8821    | 765<br>895<br>817   | 6413<br>6225<br>7172    | 6603                | ---                     | 3270<br>2778<br>2968<br>2856    |
| 90 Min.         | 3819           | 716       | 8478<br>10957<br>8003   | 661<br>897<br>980   | 7951<br>8565<br>8828    | 8445                | ---                     | 1713<br>1340<br>1502            |
| 110 Min.        | 6680           | 261       | 6653<br>6372<br>6277    | 551<br>413<br>263   | 7798<br>7523<br>7867    | 7729                | 7305<br>7098<br>6648    | 5615<br>5541<br>5299            |
| 30 Min.         | 6680           | 261       | 6644<br>6351<br>6265    | 468<br>389<br>255   | 6738<br>7577<br>6061    | 6792                | 6107<br>6051<br>5830    | 3416<br>3398<br>2956            |
| 80 Min.         | 11298          | 698       | 11001<br>13488<br>12423 | 957<br>655<br>785   | 13376<br>10702<br>12042 | 12040               | 11827<br>10481<br>10389 | 11611<br>8870<br>10202<br>10125 |
| 60 Min.         | 11298          | 698       | 13568<br>11132<br>13256 | 926<br>992<br>740   | 11634<br>9458<br>10345  | 10479               | 10236<br>8828<br>9472   | 4227<br>3958<br>4019            |

Tabelle Ic

Gepoolte Seren der Firma Biotest und Desinfektionsmittel

Verdünnung 1:7

| Einwirkungszeit | Ausgangstitel | Grenzwert | Leerwert                | Präparat<br>A (2%ig) | Präparat<br>C (1,5%ig) | Präparat<br>E (1%ig) | Präparat<br>E (2%ig) | Präparat<br>E (10%ig)        |
|-----------------|---------------|-----------|-------------------------|----------------------|------------------------|----------------------|----------------------|------------------------------|
| 75 Min.         | 3819          | 716       | 9870<br>8461<br>8056    | 703<br>709<br>811    | 6124<br>5758<br>5042   | 5641                 | ---                  | 2717<br>3318<br>3052<br>3120 |
| 90 Min.         | 3819          | 716       | 9827<br>8924<br>8992    | 687<br>667<br>662    | 6900<br>7622<br>8752   | 7758                 | ---                  | 1289<br>1248<br>1494         |
| 110 Min.        | 6680          | 261       | 6518<br>6429<br>6079    | 403<br>378<br>194    | 5289<br>4659<br>4936   | 4961                 | 5542<br>5488<br>5206 | 3854<br>3791<br>3629         |
| 130 Min.        | 6680          | 261       | 6456<br>6303<br>5973    | 356<br>289<br>186    | 4202<br>4489<br>3930   | 4207                 | 4837<br>4811<br>4610 | 2754<br>2743<br>2375         |
| 180 Min.        | 11298         | 698       | 12715<br>10379<br>12261 | 929<br>645<br>787    | 10265<br>8332<br>9993  | 9530                 | 3891<br>3728<br>3855 | 3815<br>3688<br>3702         |
| 300 Min.        | 11298         | 698       | 13384<br>11002<br>12331 | 766<br>462<br>581    | 9051<br>7734<br>8304   | 8363                 | 3213<br>3096<br>3099 | 1608<br>1584<br>1593         |

Tabelle Id

Gepoolte Seren der Firma Biotest und Desinfektionsmittel

Verdünnung 1:15

| Einwirkungszeit | Ausgangstitel | Grenzwert | Leerwert                | Präparat<br>A(2%ig) | Präparat<br>C(1,5%ig) | Präparat<br>E(1%ig)  | Präparat<br>E(2%ig)  | Präparat<br>E(10%ig) |
|-----------------|---------------|-----------|-------------------------|---------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| 75 Min.         | 3819          | 716       | 7221<br>9026<br>9306    | 976<br>669<br>736   | 3151<br>3155<br>3894  | ---                  | ---                  | 2476<br>2113<br>3435 |
| 90 Min.         | 3819          | 716       | 8806<br>6993<br>8706    | 638<br>651<br>628   | 2822<br>3965<br>3718  | ---                  | ---                  | 1134<br>1130<br>1158 |
| 110 Min.        | 6680          | 261       | 5848<br>5718<br>5490    | 378<br>319<br>188   | 3275<br>2737<br>3385  | 4813<br>4744<br>4531 | 3866<br>3920<br>3776 | 3438<br>3396<br>3316 |
| 130 Min.        | 6680          | 261       | 6152<br>6159<br>5853    | 315<br>244<br>155   | 2545<br>2738<br>2481  | 4652<br>4577<br>4022 | 1871<br>1789<br>1680 | 1864<br>1578<br>1313 |
| 180 Min.        | 11298         | 698       | 111992<br>9925<br>10543 | 901<br>618<br>743   | 6913<br>6781<br>6765  | 1553<br>1380<br>1451 | 1476<br>1132<br>1139 | 1166<br>872<br>1001  |
| 300 Min.        | 11298         | 698       | 12702<br>10356<br>12108 | 748<br>688<br>559   | 5677<br>5537<br>5676  | 1499<br>1321<br>1365 | 1333<br>951<br>1037  | 867<br>626<br>740    |

Abbildungen I a-d

Einwirkung verschiedener Desinfektionsmittel auf Verdünnungsreihen gepoolter Australia-Antigen-haltiger Seren der Firma Biotest (Ultraviolett- $\beta$ -Propiolakton vorbehandelt)

Um die Ergebnisse aus den Tabellen I a-d trotz der verschiedenen Grenzwerte miteinander vergleichen zu können, werden alle Grenzwerte gleich 1% gesetzt und im Verhältnis dazu die drei verschiedenen Ausgangstiter in % über dem Grenzwert auf der Ordinate aufgetragen (als 1, 2 und 3 gekennzeichnet). Die nach der Inkubation mit den verschiedenen Desinfektionsmitteln bestimmten Mittelwerte werden ebenfalls in % über dem Grenzwert transferiert und in Abhängigkeit von der Inkubationszeit (Abszisse) in den Abbildungen eingetragen.

Aus den Zeichnungen geht hervor, daß das Präparat A vor den Präparaten E und C bei allen Inkubationszeiten und Verdünnungen die Ausgangstiter der gepoolten Seren am stärksten reduziert. Es werden für das Präparat A Counts bis in die Nähe des Grenzwertes erreicht, teilweise sogar darunter.

Auffallend ist die Beobachtung, daß in den ersten Verdünnungsstufen die Leerwerte teilweise einen stärkeren Abfall der Counts erzeugen als die Präparate E und C. Der teilweise Anstieg der Counts in den ersten Verdünnungsstufen beruht möglicherweise auf dem sogenannten Prozone-Phänomen (31).

Abbildung I a

Verdünnung 1:1

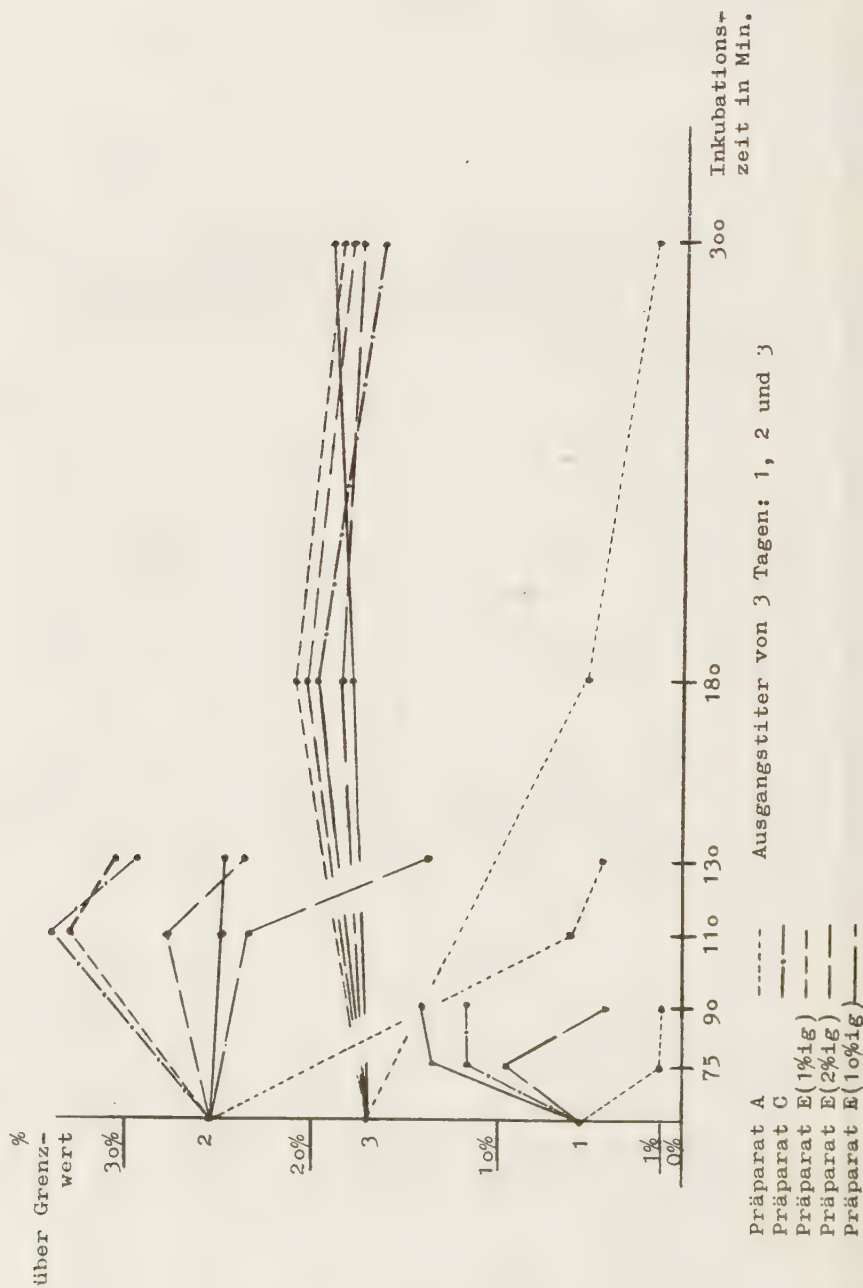
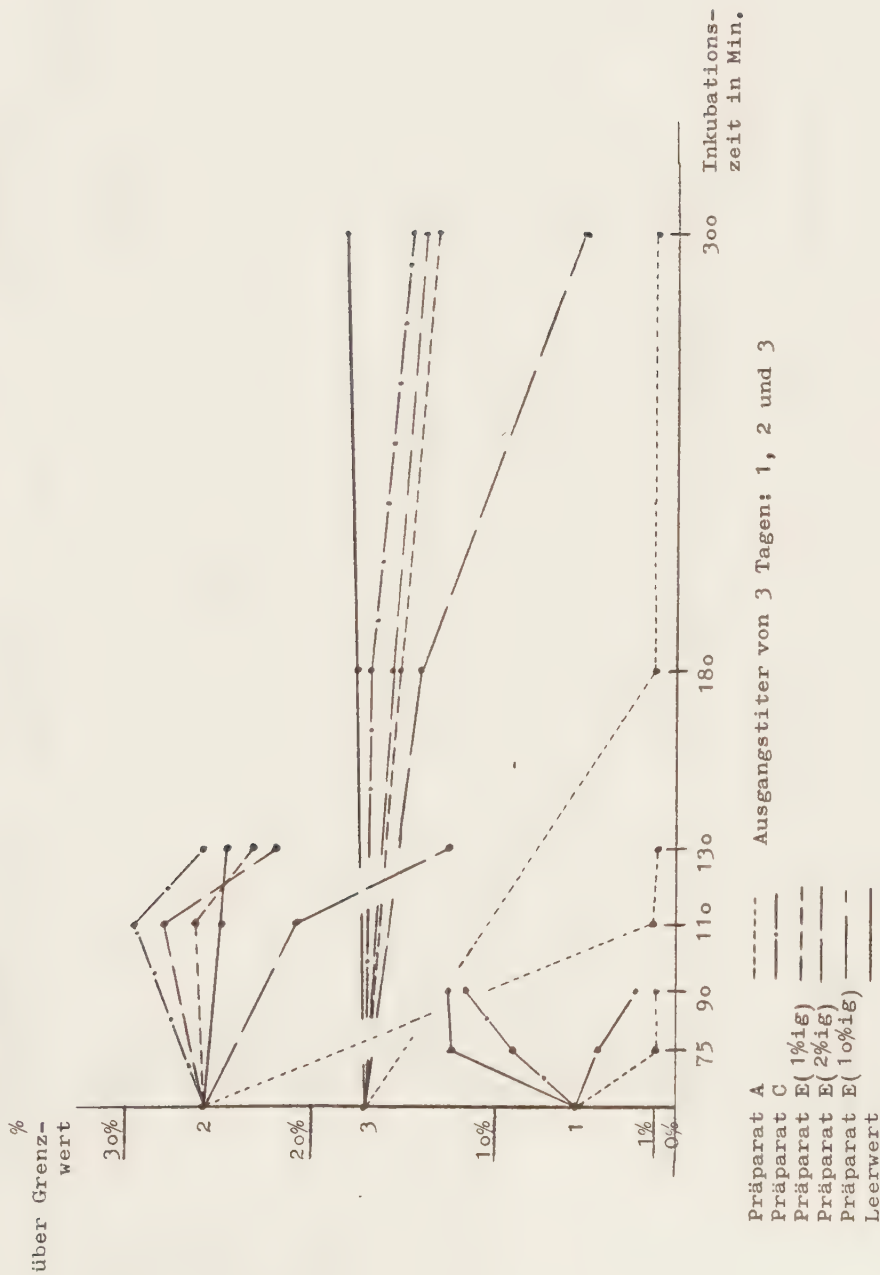


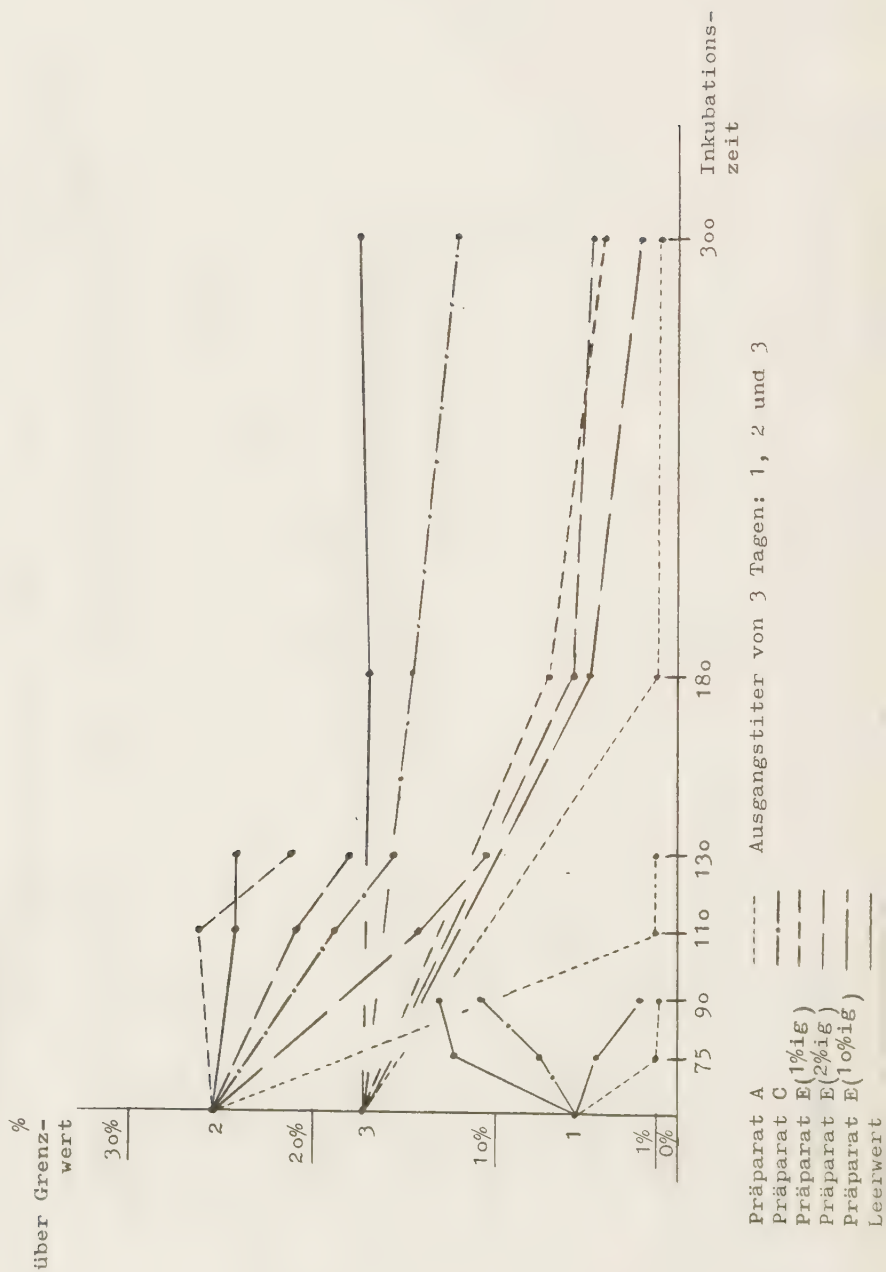
Abbildung I b

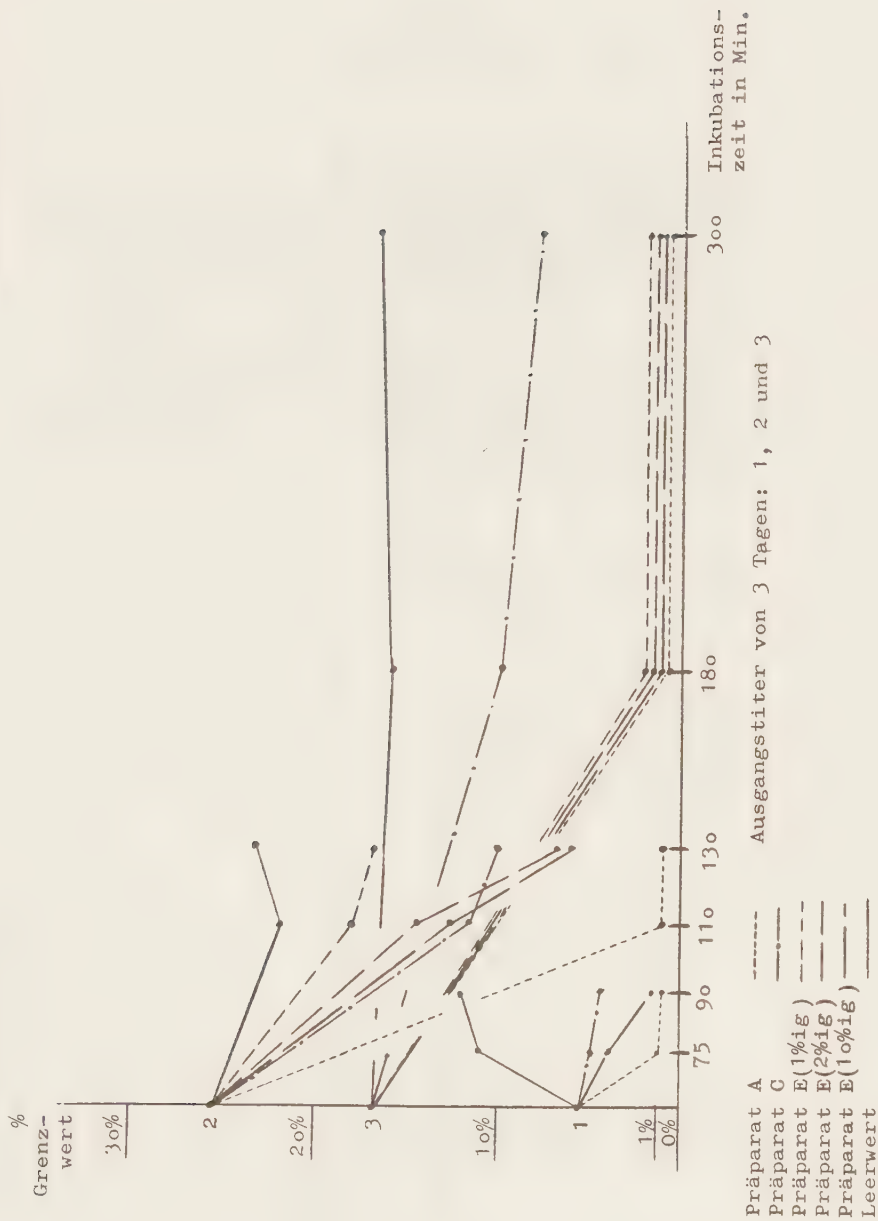
Verdünnung 1:3



Verdünnung 1:7

Abbildung I c





Tabellen III a-d, Tabellen IV a+b

Einwirkung verschiedener Desinfektionsmittel auf Verdünnungsreihen von Seren von Hepatitis-B-Patienten

Die sechs unterschiedlichen Ausgangstitel und Grenzwerte ergeben sich aus der Benutzung von sechs verschiedenen Seren von Hepatitis-B-Patienten. Nach der Inkubation mit den Desinfektionsmitteln werden die in Counts/Min. gemessenen Ergebnisse aus je drei Messungen mit den gleichen Versuchsbedingungen gemittelt.

Tabelle IIIa

Serum eines Hepatitis-B-Patienten und Desinfektionsmittel

Verdünnung 1:1

| Einwirkungszeit | Ausgangstitel | Grenzwert | Leerwert | Präparat |            |            |          | Präparat |  |
|-----------------|---------------|-----------|----------|----------|------------|------------|----------|----------|--|
|                 |               |           |          | A (2%ig) | D (0,4%ig) | C (1,5%ig) | E (2%ig) |          |  |
| 90 Min.         | 5507          | 195       | 2406     | 574      | 873        | 3755       | 2894     |          |  |
|                 |               |           | 2250     | 709      | 888        | 3793       | 2296     |          |  |
|                 |               |           | 1965     | 642      | 963        | 4273       | 2530     |          |  |
| 120 Min.        | 5507          | 195       | 2467     | 546      | 723        | 3766       | 1930     |          |  |
|                 |               |           | 3413     | 675      | 750        | 3830       | 2067     |          |  |
|                 |               |           | 1537     | 666      | 606        | 3702       | 2811     |          |  |
| 150 Min.        | 5507          | 195       | 1848     | 536      | 739        | 2323       | 2421     |          |  |
|                 |               |           | 1363     | 620      | 812        | 3512       | 1525     |          |  |
|                 |               |           | 2674     | 452      | 839        | 3033       | 3218     |          |  |

Tabelle IIIb

Serum eines Hepatitis-B-Patienten und Desinfektionsmittel

Verdünnung 1:3

| Einwirkungszeit | Ausgangstitel | Grenzwert | Leerwert             | Präparat A (2%ig) |      |     | Präparat D (0,4%ig) |      |      | Präparat C (1,5%ig) |      |     | Präparat E (2%ig) |     |      |
|-----------------|---------------|-----------|----------------------|-------------------|------|-----|---------------------|------|------|---------------------|------|-----|-------------------|-----|------|
|                 |               |           |                      | A (2%ig)          |      |     | D (0,4%ig)          |      |      | C (1,5%ig)          |      |     | E (2%ig)          |     |      |
| 90 Min.         | 5507          | 195       | 1959<br>1779<br>1906 | 258               | 1881 | 300 | 1308                | 1271 | 1289 | 1358                | 1742 | 548 | 780               | 667 | 1289 |
|                 |               |           |                      | 305               | 337  | 298 | 674                 | 1180 | 1448 | 2022                | 1827 | 631 | 632               |     |      |
|                 |               |           |                      | 369               |      |     |                     |      |      |                     |      |     |                   |     |      |
| 120 Min.        | 5507          | 195       | 2447<br>1587<br>2794 | 275               | 2276 | 298 | 1222                | 1275 | 1180 | 1448                | 1827 | 566 | 631               | 610 |      |
|                 |               |           |                      | 250               |      |     | 1044                |      |      | 2022                |      | 631 |                   |     |      |
|                 |               |           |                      | 369               |      |     |                     |      |      | 2012                |      | 632 |                   |     |      |
| 150 Min.        | 5507          | 195       | 1431<br>1229<br>1646 | 579               | 1435 | 414 | 1348                | 1484 | 1367 | 1654                | 1795 | 795 | 556               | 586 | 407  |
|                 |               |           |                      | 375               |      |     | 1269                |      |      | 2093                |      | 556 |                   |     |      |
|                 |               |           |                      | 290               |      |     |                     |      |      | 1637                |      | 407 |                   |     |      |

Tabelle IIIc

Serum eines Hepatitis-B-Patienten und Desinfektionsmittel

Verdünnung 1:7

| Einwirkungszeit | Ausgangstitel | Grenzwert | Leerwert             | Präparat<br>A(2%ig) | Präparat<br>D(0,4%ig) | Präparat<br>C(1,5%ig) | Präparat<br>E(2%ig) |
|-----------------|---------------|-----------|----------------------|---------------------|-----------------------|-----------------------|---------------------|
| 90 Min.         | 5507          | 195       | 1809<br>1357<br>1228 | 259<br>300<br>255   | 1285<br>1781<br>1397  | 680<br>862<br>581     | 427<br>435<br>420   |
| 120 Min.        | 5507          | 195       | 1662<br>1627<br>1131 | 287<br>232<br>254   | 2015<br>1233<br>1381  | 658<br>684<br>709     | 485<br>695<br>590   |
| 150 Min.        | 5507          | 195       | 1162<br>1219<br>1470 | 295<br>421<br>325   | 2105<br>1786<br>1385  | 486<br>568<br>611     | 452<br>473<br>518   |

Tabelle IIIa

Serum eines Hepatitis-B-Patienten und Desinfektionsmittel

Verdünnung 1:15

| Einwirkungszeit | Ausgangstiter | Grenzwert | Leerwert             | Präparat<br>A (2%ig) | Präparat<br>D (0,4%ig) | Präparat<br>C (1,5%ig) | Präparat<br>E (2%ig) |
|-----------------|---------------|-----------|----------------------|----------------------|------------------------|------------------------|----------------------|
| 90 Min.         | 5507          | 195       | 1208<br>1663<br>1330 | 267<br>192<br>276    | 701<br>846<br>556      | 313<br>326<br>419      | 475<br>446<br>376    |
| 120 Min.        | 5507          | 195       | 1005<br>1334<br>1320 | 236<br>225<br>247    | 753<br>652<br>556      | 352<br>418<br>336      | 492<br>449<br>431    |
| 150 Min.        | 5507          | 195       | 1547<br>998<br>1040  | 313<br>276<br>236    | 623<br>713<br>475      | 371<br>301<br>365      | 502<br>497<br>494    |

Tabelle IVa

Seren anderer Hepatitis-B-Patienten und Desinfektionsmittel

Verdünnung 1:3

| Einwirkungszeit | Ausgangstitel | Grenzwert | Präparat<br>A (2%ig) | Präparat<br>B (3%ig) | Präparat<br>C (1,5%ig) | Präparat<br>E (2%ig) | Patient    |
|-----------------|---------------|-----------|----------------------|----------------------|------------------------|----------------------|------------|
| 120 Min.        | 12866         | 330       | 405<br>458<br>443    | 1464<br>1416<br>1248 | 4352<br>4493<br>4744   | 4174<br>4671<br>4696 | 2. Patient |
| 120 Min.        | 7200          | 330       | 416<br>508<br>437    | 1092<br>1305<br>1122 | 7087<br>6832<br>7749   | 2812<br>3569<br>1952 | 3. Patient |
| 120 Min.        | 7959          | 349       | 486<br>557<br>571    | 1410<br>1336<br>1153 | 3731<br>4158<br>2791   | 6743<br>7851<br>6257 | 4. Patient |
| 120 Min.        | 4864          | 345       | 488<br>415<br>414    | 1158<br>1110<br>1208 | 3573<br>3479<br>3241   | 4380<br>4392<br>4465 | 5. Patient |
| 120 Min.        | 7123          | 365       | 462<br>454           | 1105<br>1107         | 3038<br>3549           | 5495<br>5217         | 6. Patient |

Tabelle IVb

Serum anderer Hepatitis-B-Patienten und Desinfektionsmittel

Verdünnung 1:15

| Einwirkungszeit | Ausgangstitel | Grenzwert | Präparat<br>A (2%ig)     | Präparat<br>B (3%ig) | Präparat<br>C (1,5%ig) | Präparat<br>E (2%ig) | Patient    |            |
|-----------------|---------------|-----------|--------------------------|----------------------|------------------------|----------------------|------------|------------|
| 120 Min.        | 12866         | 330       | 357<br>370<br>342        | 409<br>515<br>384    | 942<br>1012<br>897     | 736<br>730<br>959    | 2. Patient |            |
| 120 Min.        | 7200          | 330       | 364<br>380<br>366        | 864<br>1102<br>835   | 1943<br>1962<br>1781   | 780<br>685<br>845    | 3. Patient |            |
| 120 Min.        | 7959          | 349       | 344<br>396<br>412        | 422<br>474<br>529    | 726<br>736<br>790      | 677<br>546<br>582    | 4. Patient |            |
| 120 Min.        | 4864          | 345       | 399<br>423<br>470        | 551<br>472<br>820    | 915<br>897<br>851      | 614<br>645<br>613    | 5. Patient |            |
| 120 Min.        |               |           | -----nicht gemessen----- |                      |                        |                      |            | 6. Patient |

Abbildungen II\_a-d

Einwirkung verschiedener Desinfektionsmittel auf die Verdünnungsreihe eines Serums eines Hepatitis-B-Patienten

Um die Ergebnisse aus den Tabellen III a-d miteinander vergleichen zu können, wird der Grenzwert gleich 1% gesetzt und im Verhältnis dazu der Ausgangstiter in % über dem Grenzwert auf der Ordinate aufgetragen. Die nach der Inkubation mit den verschiedenen Desinfektionsmitteln bestimmten Mittelwerte werden ebenfalls in % über dem Grenzwert umgewandelt und in Abhängigkeit von der Inkubationszeit (Abszisse) in den Abbildungen eingetragen.

Aus den Zeichnungen geht hervor, daß das Präparat A auch hier bei allen Inkubationszeiten und Verdünnungen vor den Präparaten E und C den Ausgangstiter des Patientenserums am stärksten reduziert. Es werden für das Präparat A Counts bis in den Grenzbereich gemessen.

Auffallend ist auch hier die Beobachtung, daß in den ersten Verdünnungsstufen die Leerwerte teilweise einen stärkeren Abfall der Counts erzeugen als die Präparate E und C.

Abbildung II a

Verdünnung 1:1

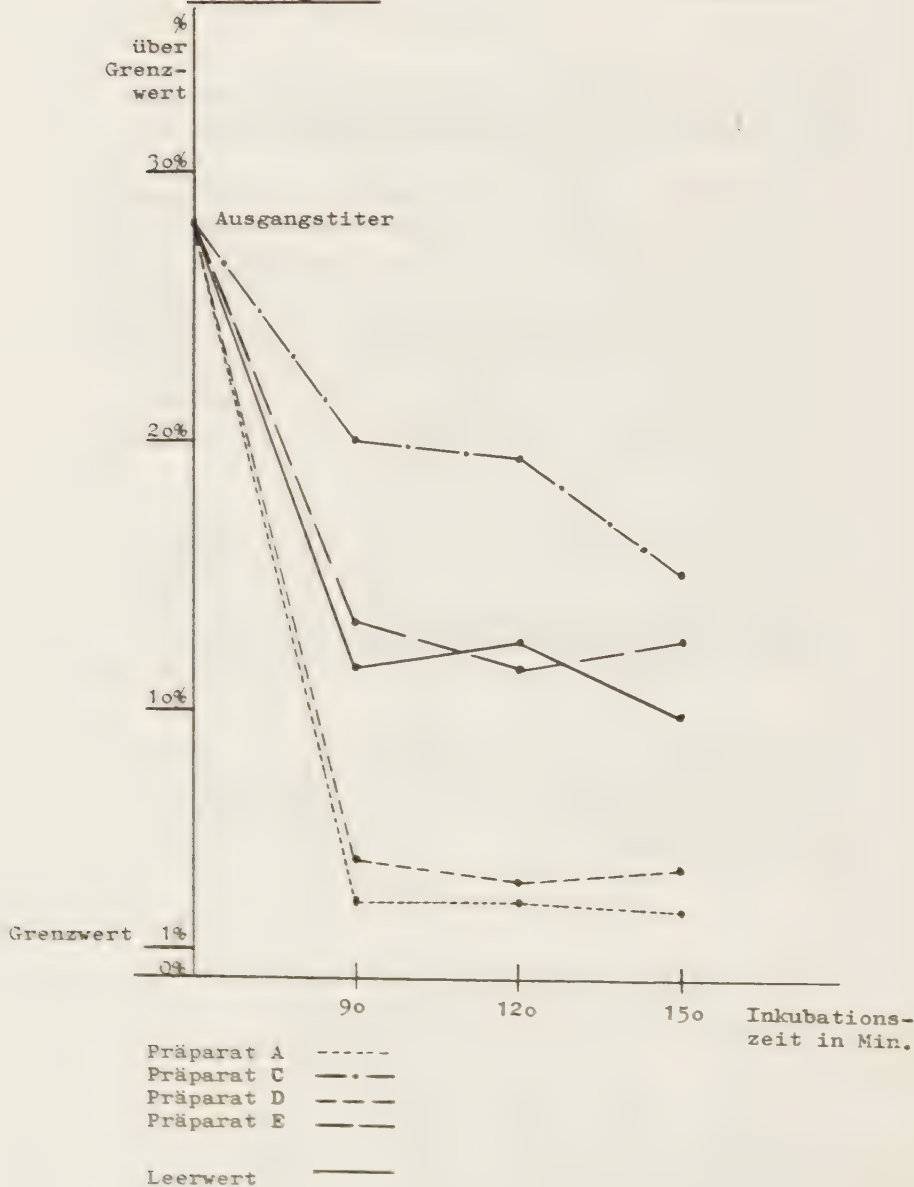
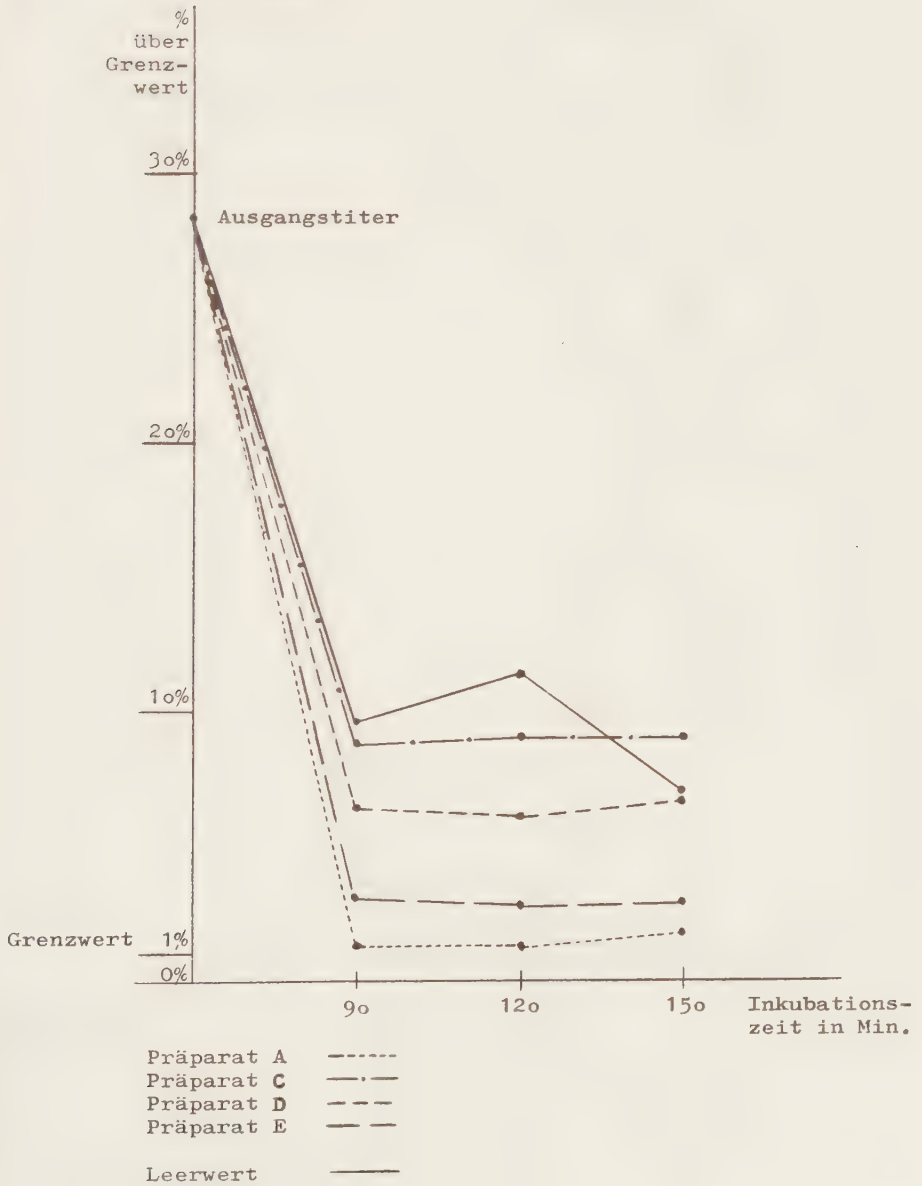


Abbildung II b

Verdünnung 1:3



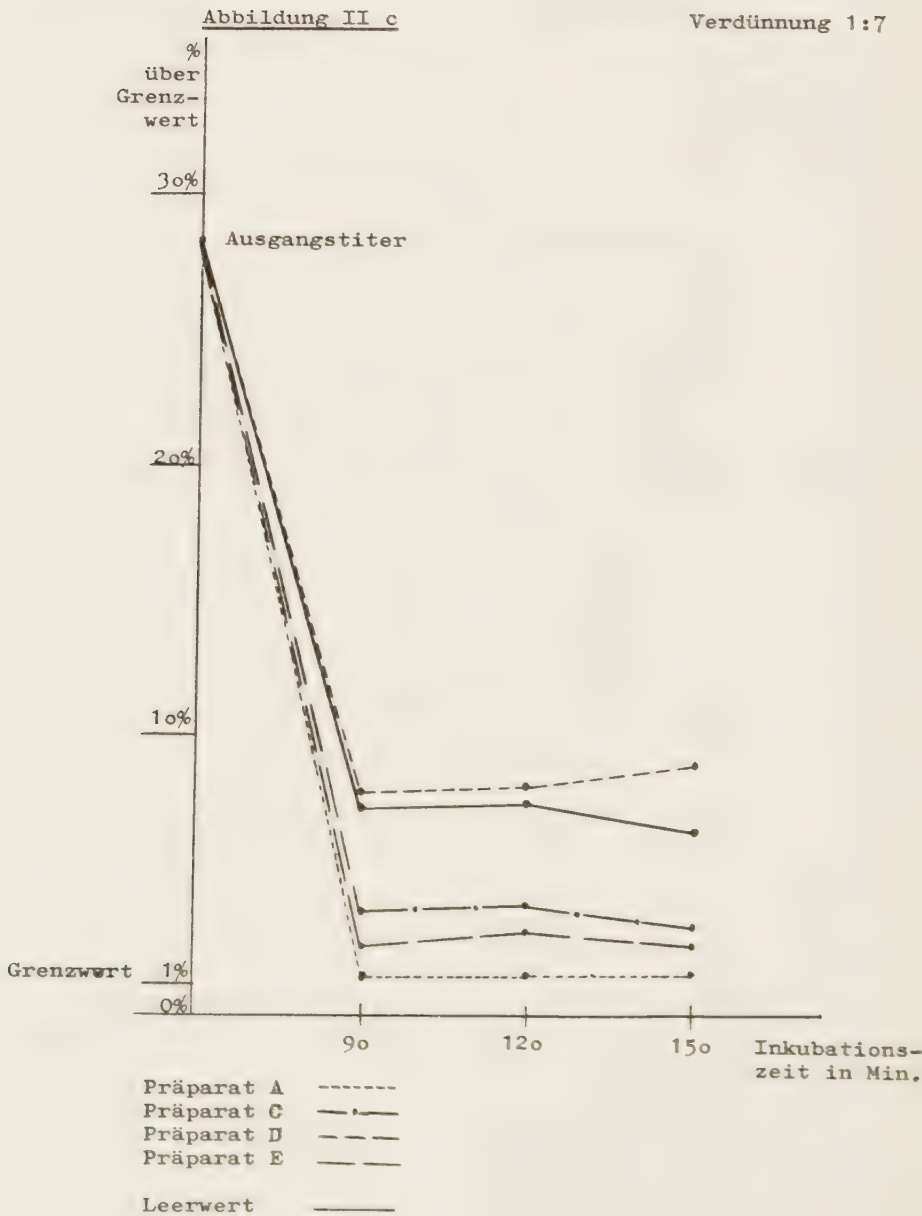


Abbildung II d

Verdünnung 1:15

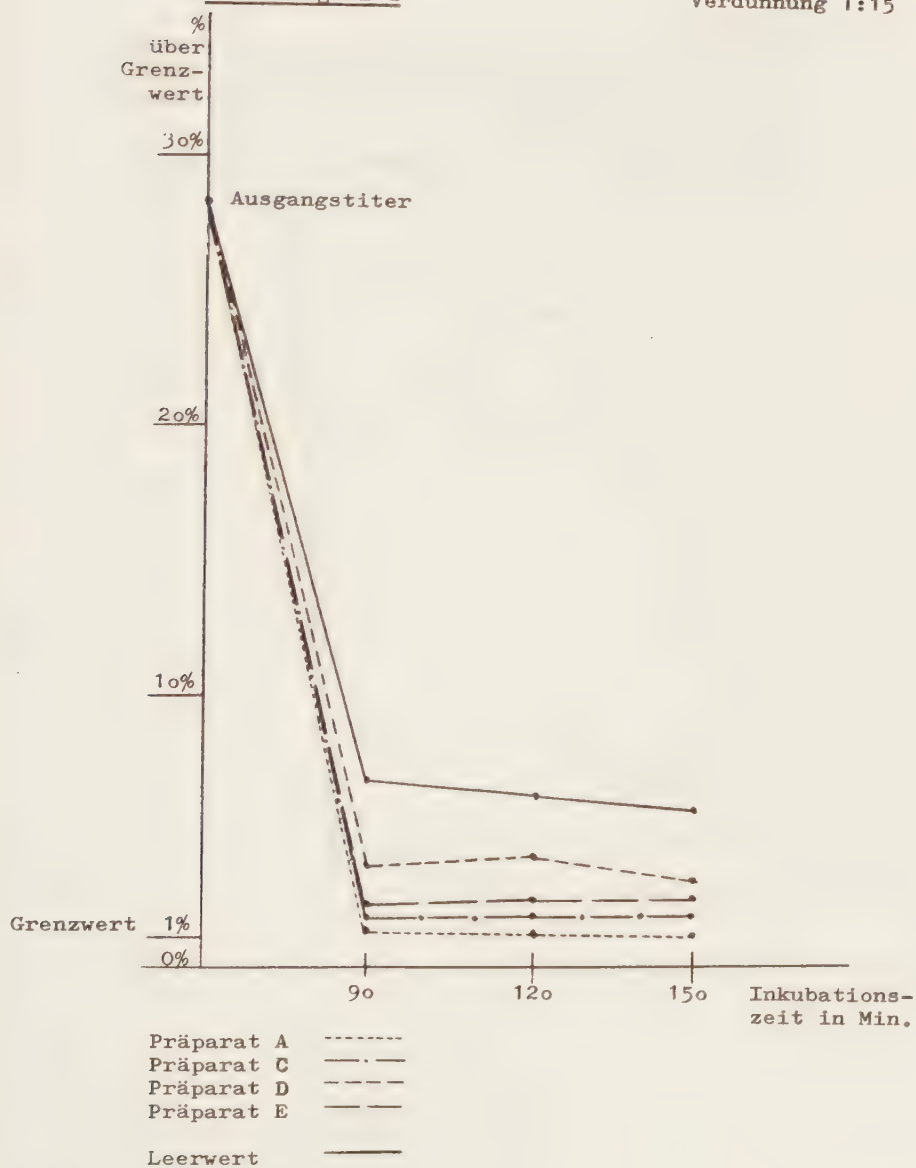


Abbildung III

Zusammenstellung aller Mittelwerte aus den Tabellen  
III a-d nur für das Präparat A, für alle Inkubations-  
zeiten und Verdünnungen

Deutlich erkennbar ist die Abnahme der Counts bis in  
den Grenzbereich.

Abbildung III

Präparat A

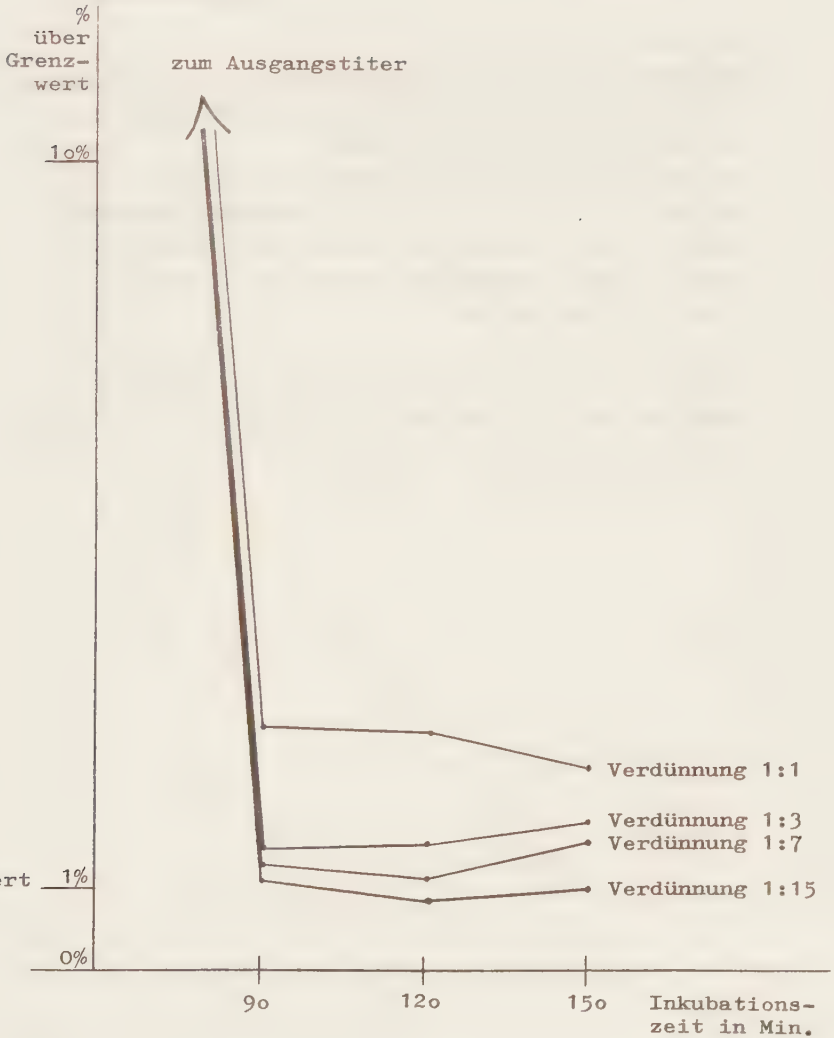


Abbildung IV

Zusammenstellung aller Mittelwerte aus den Tabellen  
III a-d nur für 120 Min. Inkubation, für alle Desin-  
fektionsmittel und Verdünnungen

Es läßt sich leicht die Einstufung des Präparates E zwischen die Präparate A und C erkennen. Das Präparat D zeigt dagegen kein eindeutiges Verhalten: trotz weiterer Verdünnung nehmen die gemessenen Counts/Min. weiter zu.

Auffallend ist die Beobachtung, daß in der ersten Verdünnungsstufe der Leerwert einen stärkeren Abfall der Counts erzeugt als das Präparat C.

Abbildung IV

Einwirkungszeit 120 Min.

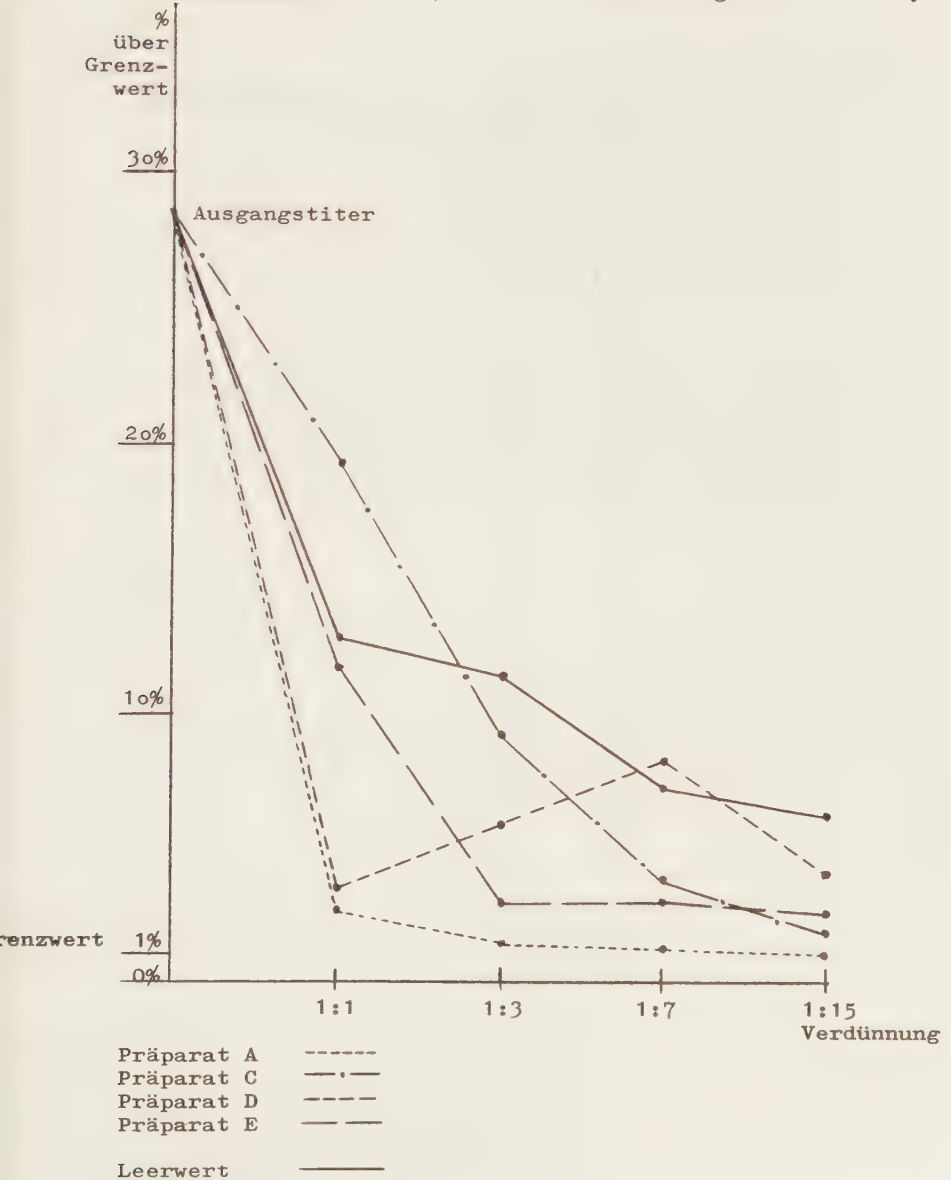


Tabelle V

Einwirkung des Präparates A auf eine Verdünnungsreihe  
insulinhaltigen Serums eines adipösen Patienten

Der Ausgangstiter im Patientenserum sowie die Werte nach Einwirkung des Präparates A werden, nach Bestimmung ihres B/F-Wertes im Radioimmunoassay für Insulin, in einer Eichkurve abgelesen, die mit Hilfe von Insulinstandards aufgestellt wird.

Die nach Einwirkung des Präparates A gemessenen Insulinwerte liegen um das 5-6fache höher als die Insulinkonzentration im Ausgangsserum. Diese Veränderung ist höchstwahrscheinlich durch eine Beeinflussung der Meßmethode bedingt.

Tabelle V  
Insulinhaltiges Serum eines adipösen Patienten und Präparat A

| <u>Verdünnung</u> | <u>Einwirkungszeit</u> | <u>Ausgangstiter</u> | <u>Leerwert</u> | <u>Präparat A (2%ig)</u> |
|-------------------|------------------------|----------------------|-----------------|--------------------------|
| 1:1               | 60 Min.                | 120                  | 73              | 631                      |
|                   |                        |                      | 70              | 592                      |
|                   |                        |                      | 79              | 622                      |
| 1:3               | 60 Min.                | 120                  |                 | 643                      |
|                   |                        |                      | 38              | 765                      |
|                   |                        |                      | 32              | 728                      |
|                   |                        |                      | 41              | 763                      |

7..... Literaturverzeichnis

- 1.) Abbott, Firma:  
AU(SH)Radioimmunoassay  
Wissenschaftlicher Prospekt
- 2.) Almeida J.D., D.Rubenstein, E.J.Scott:  
New antigen-antibody system in Australia-antigen-positive hepatitis  
Lancet (1971) II, 1225-1227
- 3.) Alp M.H., R.Wright:  
Immunglobuline, virus-like particles and autoantibodies in bile  
Gut., 959 (1971)
- 4.) Axon A.T.R., I.Phillips, P.B.Cotton, S.A.Avery:  
Disinfection of gastrointestinal fibre endoscopes  
Lancet (1974) I, 656-658
- 5.) Barker L.F., R.Shulman, R.Murray, R.J.Hirschman, R.Ratney, W.C.Diefenbach, H.M.Geller:  
Transmission of serum-hepatitis  
JAMA 211, 1509-1512 (1970)
- 6.) Borick P.M., F.H.Dondershine, V.L.Chandler:  
Alkalinized glutaraldehyde, a new antimicrobial agent  
J.Pharm.Sciences Vol 53, No 10, 1273-1275 (1964)
- 7.) O'Brien H.A., J.D.Mitchell, S.Haberman, D.F.Rowan, T.E. Winford, F.Fellet:  
The use of activated glutardialdehyde as a cold sterilizing agent for urological instruments  
J.Urol. 95, 429-435 (1966)

8.) Dane D.S., G.H.Cameron, M.Briggs:

Virus-like particles in serum of patients with Australia-  
antigen-assoziated hepatitis  
Lancet (1970) I, 695-698

9.) Eckert H.G.:

Bestimmung biologisch aktiver Substanzen mit Radioimmuno-  
assay  
Laborblätter 25, 56-62 (1975)

10.) Feinman S.V., I.Krassnitski, J.C.Sinclair, D.M.Wrobel,  
V.Berris:

Hepatitis B surface antigen in saliva of HB<sub>S</sub>Ag carriers  
J.Lab.Clin.Med. 85, 1042-1048 (1975)

11.) LoGrippo G.A., H.Hayashi:

Efficacy of Betaprone with ultraviolet irradiation  
on hepatitis B antigen in human plasma pools  
Henry Ford.Hosp.Med.Journal 21, 181-186 (1973)

12.) Grob P.J., H.Jemelka:

Faecal SH(Australia)antigen in acute hepatitis  
Lancet (1971) I, 206-208

13.) Hartman F.W., A.R.Kelly, G.A.LoGrippo:

Four-year study concerning the inactivation of viruses  
in blood and plasma  
Gastroenterology 28, 244-256 (1954)

14.) Heathcote J., C.H.Cameron, D.S.Dane:

Hepatitis-B antigen in saliva and semen  
Lancet (1974) I, 71-73

- 15.) Heike B., D.Rehbinder, U.Aldag:  
Laboruntersuchungen mit Radioimmunoassay  
Bioscientia Nr. 1 (1974)
- 16.) Henkel, Firma:  
Instrumentendesinfektionsmittel Sekusept  
Wissenschaftlicher Prospekt
- 17.) Johnson & Johnson, Firma:  
Alhydex sterilisierende Lösung  
Wissenschaftlicher Prospekt
- 18.) Kelen A.E., A.E.Harthaway, D.A.McLeod:  
Rapid detection of Australia-antigen (SH antigen  
and antibody) by a simple and sensitive technic of  
immuelektromicroscopy  
Canad.J.Microbiol. 17, 993 (1970)
- 19.) Klein M., A.Deforest:  
The inactivation of viruses by germicides  
Amer.Soc.Micr.Meetings, 116-118 (1963)
- 20.) Knolle J.:  
Neue Erkenntnisse über die akute Virushepatitis  
Wehrmed.Mschr. Heft 7/8, 213-217 (1975)
- 21.) Krugman S., J.P.Giles, J.Hammond:  
Hepatitis virus: effect of heat on the infectionity  
and antigenicity of the MS-1 and MS-2 strain  
J.Infect.Dis. 122, 432-436 (1970)

22.) Krugman S., J.P.Giles, J.Hammond:

Infectious hepatitis: evidence for two distinctive  
clinical, epidemiological types of infection  
J.Amer.Med.Ass. 200, 365-373 (1967)

23.) Künzel W.:

$\beta$ -Propiolakton  
Handbuch der Desinfektion und Sterilisation, VEB-Verlag  
Volk und Gesundheit Bd. 2, Kapitel 10, 216-237 (1973)

24.) Masserrat S., M.Urban, W.Schiff:

Besteht bei der Gastroskopie das Risiko einer Hepatitis-  
Übertragung?  
Dtsch.Med.Wschr. 100, 42-45 (1975)

25.) Maynard E., K.R.Berquist, W.V.Hartwell, D.H.Krushak:

Viral hepatitis and studies of hepatitis associated  
antigen in chimpansees  
C.M.A.Journal 106, 473-479 (1972)

26.) Merz, Firma:

Mucocit-F  
Wissenschaftlicher Prospekt

27.) Morris J.M., D.S.Cattles, B.J.Smith:

Endoscopy and transmission of hepatitis B  
Lancet (1975) II, 1152

28.) Roe F.J.C., M.H.Salaman:

Further studies on incomplete carcinogenesis: triethylene  
melamine, 2,1-benzanthrazine and  $\beta$ -propiolactone, as  
initiators of skin tumour formation in the mouse  
Brit.J.Cancer 9, 177-203 (1955)

29.) Rubbo S.D., J.F.Gardner, R.L.Webb:

Biocidal activities of glutardialdehyde and related compounds

J.Appl.Bact. 30 (1), 78-87 (1967)

30.) Schmidt B.:

Fachärztliches Gutachten über die Brauchbarkeit des Präparates Alhydex zur Desinfektion ärztlicher Instrumente, und Ergänzungsgutachten zur Desinfektion bei Tuberkulose, und fachärztliches Gutachten über die Brauchbarkeit von Alhydex zur Sterilisation von ärztlichem Instrumentarium, und Ergänzungsgutachten zur Desinfektion bei Kontamination mit Klebsiella und Enterobacter cloacae

(1970-1973)

31.) Schmidt H.:

Das Prozon-Phänomen

Fortschritte der Serologie, 2.Auflage, Verlag Dr.D. Steinkopff Darmstadt (1955)

32.) Schülke & Mayr:

Gigasept zur Desinfektion von Instrumenten, Laborgeräten und Anästhesiezubehör

Wissenschaftlicher Prospekt

33.) Stonehill A.A., S.Krop, M.Borick:

Buffered glutardialdehyde- a new chemical sterilizing solution

Amer.J.Hosp.Pharm. 20, 458-465 (1963)

- 34.)Thraenhard O., R.Dermietzel, E.Kuwert, N.Scheiermann:  
Morphologische Veränderungen und Desintegration von  
Dane-Partikeln nach Gigasept-Behandlung. Ein erster  
Versuchsansatz zur Beurteilung der Hepatitis-B-Viru-  
zidie chemischer Desinfektionsmittel  
Zbl.Bakt.Hyg., Abt.Orig.B 164, 1-21 (1977)
- 35.)Tripatzis I., H.G.Horst:  
Detection of Australia-antigen in urine  
Nature 231, 266-267 (1971)
- 36.)Villarejos V.M., K.A.Visona, A.Gutierrez, A.Rodriquez:  
Role of saliva, urine and feces in the transmission  
of type B hepatitis  
New Engl.J.Med. 291, 1375-1378 (1974)
- 37.)Zuckerman A.J.:  
Ultrastructural features of hepatitis B antigen (Austra-  
lia-antigen)  
Dtsch.Med.Wschr. 97, 1672 (1972)
- 38.)Zuckerman A.J.:  
More antigen in hepatitis B  
Nature 253, 13 (1975)

Für die Überlassung des Thomas, die freundliche Anleitung und die wertvolle Hilfe danke ich  
Herrn Ass.Prof. Dr.med. U. B a a s  
Serafinich.

Gleichzeitig möchte ich mich auch bei  
Herrn Prof. Dr. Beyer,  
Herrn Prof. Dr. Maas,  
Frau Dr. Arndt-Hanser und  
bei den Firmen Abbott und Biotest  
für die liebenswürdige Unterstützung bedanken.

# L e b e n s l a u f

|                          |                                                                                            |
|--------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|
| Name, Vorname            | B e r n h a r d , Ulrich                                                                   |
| geb. am, in              | 29.11.1950 in 658 Idar-Oberstein                                                           |
| Vater (Beruf)            | Dr.med. Paul Albert Bernhard<br>(Röntgenfacharzt)                                          |
| Mutter, geborene         | Waltraud Ruth Hannelore Bernhard,<br>geborene Gottlieb                                     |
| Volksschule              | 1957-1961 in Idar-Oberstein                                                                |
| Gymnasium                | 1961-1969 am Staatlichen Götten-<br>bach-Gymnasium in Idar-Oberstein                       |
| Abitur                   | 19.6.69 am obig genannten Gymnasium                                                        |
| Krankenpflegedienst      | 1.7.69-31.12.69 am Städtischen<br>Krankenhaus in Baumholder                                |
| Hilfsdienst              | 1.1.70-31.3.70 in der Praxis<br>meines Vaters                                              |
| Bundeswehrdienst         | 1.4.70-Sommersemester 1971 beim<br>Feldjägerdienstkommmando in Worms                       |
| Medizinstudium           | SS 1971-SS 1976 an der Johannes-<br>Gutenberg Universität in Mainz                         |
| Famulatur                | August/September 1973, Februar/<br>März 1974 am Städtischen Kranken-<br>haus in Baumholder |
| verheiratet seit         | 15.8.75                                                                                    |
| Ehefrau, geborene        | Evelin Ingrid Bernhard, geborene<br>Griepentrog                                            |
| geb. am, in              | 1.3.1949 in 35 Kassel                                                                      |
| Sohn                     | Michael Bernhard                                                                           |
| geb. am, in              | 23.3.1976 in 65 Mainz                                                                      |
| Staatsexamen in Medizin  | 6.12.76 an der Johannes Guten-<br>berg Universität in Mainz                                |
| Medizinalassistentenzeit | 15.1.77-15.5.77, 15.11.77-15.7.78<br>am Burgfeldkrankenhaus in Kassel                      |
| z.Z.                     | Assistenzarzt im Röntgeninstitut<br>des Stadtkrankenhauses in Kassel                       |









